

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
der Justus Liebig-Universität Gießen

Direktoren:

Prof. Dr. H. J. Dengler, Prof. Dr. H. A. Kühn, Prof. Dr. H. G. Lasch

Abteilung: Prof. Dr. H. G. Lasch

**Untersuchungen zum katabolen
Mucopolysaccharidstoffwechsel peripherer Gefäße
in Abhängigkeit von Alter und Arteriosklerose**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
an der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Vorgelegt von
Dietrich Pernice
aus Bad Hersfeld

Gießen 1969

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
der Justus Liebig-Universität Gießen

Direktoren:

Prof. Dr. H. J. Dengler, Prof. Dr. H. A. Kühn, Prof. Dr. H. G. Lasch

Abteilung: Prof. Dr. H. G. Lasch

**Untersuchungen zum katabolen
Mucopolysaccharidstoffwechsel peripherer Gefäße
in Abhängigkeit von Alter und Arteriosklerose**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
an der Medizinischen Fakultät
der Justus Liebig-Universität zu Gießen

Vorgelegt von
Dietrich Pernice
aus Bad Hersfeld

Gießen 1969

Dekan: Professor Dr. E. Habermann

Referent: Priv.-Doz. Dr. D. Platt

Korreferent: Professor Dr. L. Róka



GLIEDERUNG :

	Seite
1.0.0.0. EINLEITUNG	1
2.0.0.0. UNTERSUCHUNGSMATERIAL	6
1.0.0. Präparation und Einteilung der Gefäße	6
1.0. Einteilung der Arterien	
2.0. Einteilung der Venen	
2.0.0. Homogenatherstellung	7
3.0.0. Vorbereitung zur DNS-Bestimmung	8
3.0.0.0. METHODIK	9
1.0.0. Bestimmung des Proteingehaltes	
2.0.0. Bestimmung des DNS-Gehaltes	
3.0.0. Bestimmung der Enzymaktivitäten der Glycosaminoglycano-Hydrolasen	10
1.0. Hyaluronidase	
2.0. β -Glucuronidase	
3.0. β -Acetylglucosaminidase	
4.0.0. Aktivitätsbestimmung der cytoplasmatischen Enzyme	13
1.0. Glutamat-Oxalacetat-Transaminase	
2.0. Glutamat-Pyruvat-Transaminase	
3.0. Alkalische Phosphatase	
4.0. Lactat-Dehydrogenase	
4.0.0.0. TABELLARISCHE DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE	16
1.0.0. Enzymaktivitäten der Arterien	
1.0. Enzymaktivitäten im Protein-Bezugssystem	
2.0. Enzymaktivitäten im DNS-Bezugssystem	
2.0.0. Enzymaktivitäten der Venen	18
1.0. Enzymaktivitäten im Protein-Bezugssystem	
2.0. Enzymaktivitäten im DNS-Bezugssystem	
3.0. Enzymaktivitäten der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, Glutamat-Pyruvat-Transaminase, alkalischen Phosphatase und Lactat-Dehydrogenase	
5.0.0.0. STATISTIK	21
1.0.0. Schätzwerte der Stichproben	
1.0. Mittelwert	
2.0. Standardabweichung	
1. Varianz	
2. Gemeinsame Standardabweichung	

5.1.3.0. Korrelationskoeffizient	23
1. Regressionsgerade	
2.0.0. Bestimmung der statistischen Wahrscheinlichkeit	24
1.0. Beurteilung des Korrelationskoeffizienten	
2.0. t-Test (Vergleich der Mittelwerte)	
3.0. F-Test (Vergleich der Varianzen)	
6.0.0.0. ERGEBNISSE	27
1.0.0. Korrelationsstatistische Ergebnisse der Femoralarterien	
1.0. Enzymaktivitäten in Abhängigkeit vom Alter	
1. β -Glucuronidase	
2. β -Acetylglucosaminidase	
2.0. Korrelation zwischen β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase	
3.0. Korrelation zwischen Enzymaktivitäten in zwei verschiedenen Bezugssystemen	28
1. β -Glucuronidase	
2. β -Acetylglucosaminidase	
2.0.0. Enzymaktivitäten der Arterien in Abhängigkeit von arteriosklerotischen Veränderungen	30
1.0. Enzymaktivitäten im Protein-Bezugssystem	
1. β -Glucuronidase	
2. β -Acetylglucosaminidase	
2.0. Enzymaktivitäten im DNS-Bezugssystem	32
3.0.0. Korrelationsstatistische Ergebnisse der Femoralvenen	32
1.0. Korrelation zwischen β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase im Protein-Bezugssystem	
2.0. Korrelation zwischen β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase im DNS-Bezugssystem	
3.0. Korrelation zwischen Enzymaktivitäten in zwei verschiedenen Bezugssystemen	33
1. β -Glucuronidase	
2. β -Acetylglucosaminidase	
4.0. Cytoplasmatische Enzyme in Abhängigkeit vom Alter	33
1. Glutamat-Oxalacetat-Transaminase	
2. Glutamat-Pyruvat-Transaminase	
3. Alkalische Phosphatase	
4. Lactat-Dehydrogenase	

6.3.5.0. Korrelation zwischen Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und Glutamat-Pyruvat-Transaminase	34
6.0. Korrelation zwischen Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und β -Glucuronidase	
7.0. Korrelation zwischen Glutamat-Pyruvat-Transaminase und β -Glucuronidase	
4.0.0. Enzymaktivitäten der Venen in Abhängigkeit von den Arteriosklerosestadien der dazugehörigen Arterien	37
1.0. Enzymaktivitäten im Protein-Bezugssystem	
1. β -Glucuronidase	
2. β -Acetylglucosaminidase	
2.0. Enzymaktivitäten im DNS-Bezugssystem	38
3.0. Enzyme des Cytoplasmas	40
1. Glutamat-Oxalacetat-Transaminase	
2. Glutamat-Pyruvat-Transaminase	
3. Alkalische Phosphatase	
4. Lactat-Dehydrogenase	
5.0.0. Vergleich der Enzymaktivitäten von Arterie und Vene	42
1.0. Enzymaktivitäten im Protein-Bezugssystem	
1. β -Glucuronidase	
2. β -Acetylglucosaminidase	
2.0. Enzymaktivitäten im DNS-Bezugssystem	43
1. β -Glucuronidase	
2. β -Acetylglucosaminidase	
7.0.0.0. DISKUSSION	45
8.0.0.0. SCHLUSSFOLGERUNGEN	50
9.0.0.0. ZUSAMMENFASSUNG	52
10.0.0.0. LITERATURVERZEICHNIS	53

1.0.0.0. EINLEITUNG

Arteriosklerose ist ein Sammelbegriff für alle Umbauvorgänge in der Arterienwand, die über leichte Veränderungen schließlich zu Elastizitätsverlust, Verhärtung und Leistungsminderung der Gefäße führen können (99).

Nach neueren Untersuchungen (1,11,17,34,38,44,51,55,56,59,60,70,81,83,84,93,94,96,102 usw.) scheint dem Gefäßwandstoffwechsel eine wesentliche Bedeutung in der Pathogenese der Arteriosklerose zuzukommen (da sie als pathologischer Prozeß des Gefäßsystems von den physiologischen Altersveränderungen des gesamten Körpers weitgehend getrennt werden muß) (12,43,44,45,59,64,78,99).

Vor allem die Eigenschaften der lichtoptisch homogenen Grundsubstanz, in die alle geformten Bestandteile der Gefäßwand eingebettet sind, stehen heute im Mittelpunkt der Arterioskleroseforschung.

Elektronenoptisch konnten in dieser homogenen Substanz feinste Fibrillen festgestellt werden, während die übrige, scheinbar strukturlose Masse durch Tropokolagene, Proteine, Mucopolysaccharide, Lipide, Elektrolyte, Wasser und Serumbestandteile gebildet wird (64,98).

Bekanntlich erfolgt die Synthese der eigentlichen Grundsubstanz und die Kontrolle ihrer Zusammensetzung durch die Fibroblasten (40,67,98). Die Bewältigung dieser wichtigen Aufgaben setzt ein fehlerloses "Funktionieren" der Bindegewebszellen voraus, Bedingung dafür sind gute Versorgung durch alle für ihren Stoffwechsel notwendigen Substrate und gute Abgabe ihrer Stoffwechselprodukte.

In der Gefäßwand der muskulären Arterien stehen diesen anorganischen und organischen Verbindungen zwei Wege zur Verfügung :

1) Die vasa vasorum, die in der A.femoralis nur bis in die Adventitia hineinreichen, da die kritische

Schichtdicke im Gegensatz zur Aorta erst in den äußeren Schichten der Media erreicht wird (69,101).

2) Die Diffusion vom Blutstrom des Lumens her durch die verschiedenen Gefäßwandschichten.

Vor allem die Diffusion der durch Pinocytose von den Endothelzellen aufgenommenen Stoffe scheint von der ungestörten Struktur und Zusammensetzung aller Bestandteile der Grundsubstanz abzuhängen (101).

Aufgrund ihrer Molekularstruktur und ihrer physikalisch-chemischen Eigenschaften könnte den Mucopolysacchariden (MPS) hier eine besondere Stellung zukommen.

Strukturmäßig weitgehend aufgeklärt sind die sauren und neutralen MPS. Sie bilden mit Proteinen Komplexe und werden je nach Gehalt an Hexosamin in Glyco- oder Mucoproteide aufgeteilt; die sog. proteinfreien MPS gehen oft assoziative Bindungen mit Plasma- und Cytoplasmaproteinen ein (37,74).

Hyaluronsäure, Chondroitinsulfat A,B,C, Chondroitin, Heparitin- und Keratosulfat konnten bisher als saure MPS in der Gefäßwand identifiziert werden (2,13,14,15, 16,17,39,55,75,76). Wegen ihrer elektrischen Ladung, ihrem Polymerisationsgrad, Membranpotential und Molekularsiebeffekt (Porengröße : 50-100Å) müssen die sauren MPS für wichtige Eigenschaften der Grundsubstanz wie Viskosität, Permeabilität, Stoffdiffusion, Ionenaustausch, pH-Stabilisierung usw. verantwortlich sein (14,39,66).

Jede biochemische Veränderung des MPS-Moleküls kann also zu Funktionsstörungen der Grundsubstanz führen, die als pathologische, makroskopische Substrate faßbar werden (z.B. Arteriosklerose). Untersuchungen über den Stoffwechsel der sauren MPS wurden notwendig und konnten zunächst durch Inkorporation von ^{14}C - und $^{35}\text{SO}_4$ -markierten Substanzen durchgeführt werden. Als wichtigste Befunde waren hohe Umsatzgeschwindigkeiten (Halbwertszeit 10-16 Tage) der MPS festgestellt worden,

die scheinbar stoffwechselinerte Gefäßwand fand stärkere Beachtung (6,8,24,31,47,49,53,54,97). Als Parameter für den katabolen MPS-Stoffwechsel wurden die Aktivitäten depolymerisierender Enzyme herangezogen, die zuerst in der Aortenwand nachgewiesen werden konnten (20,21,24). Hyaluronidase (EC 3.2.1.35) spaltet die sauren Mucopolysaccharide in geradzahlige Oligosaccharide. Erst jetzt können β -Glucuronidase (EC 3.2.1.31) und β -Acetylglucosaminidase (EC 3.2.1.30) ihre Substrate angreifen. β -Glucuronidase spaltet von den Tetrasacchariden Glucuronsäure ab, während β -Acetylglucosaminidase durch Abspaltung eines weiteren Bausteines wieder geradzahlige Produkte entstehen läßt (3,7,20,24,33,35,46,63,77,79,82,106 usw.). Diese drei Enzyme wurden bisher in der Aortenwand nachgewiesen und ihre Abhängigkeit von Alter und Arteriosklerose untersucht (56,70,83,85).

Bekanntlich werden aber die einzelnen Gefäßprovinzen des Organismus nicht im gleichen Ausmaß von arteriosklerotischen Veränderungen betroffen (10). In der vorliegenden Arbeit sollte deshalb untersucht werden, ob der katabole MPS-Stoffwechsel der peripheren Arterien im Alter und bei Arteriosklerose die gleichen Veränderungen aufweist wie der der Aorta. Als Parameter dienten die Aktivitäten der Glycosaminoglycano-Hydrolasen.

Gewisse Schwierigkeiten entstanden bei der Vorbereitung der Gewebstücke zur Homogenatherstellung: Da bei biochemischen Analysen lokalisatorisch bedingte Konzentrationsunterschiede der inhomogen veränderten Arterienwand nivelliert werden, müßte der histotop-chemischen Untersuchung (die auch kleinere Areale trennen kann) der Vorrang gegeben werden (64,85); jedoch wäre eine zahlenmäßige Auswertung nicht möglich.

Wichtig war deshalb eine sorgfältige Präparation und Verteilung der Arterienteilstücke nach makroskopisch und mikroskopisch normalen oder arteriosklerotisch veränderten Abschnitten (70,73).

Im Gegensatz zum arteriellen Gefäßsystem weisen die Venen nur sehr selten sklerotische Veränderungen auf. Dies unterschiedliche Verhalten könnte folgende Ursachen haben:

- 1) Die vasa vasorum der Gefäßwand dringen wegen des geringen Kompressionsdrucks des Venenlumens bis zur Intima vor. Kritische Schichtdicken werden auch im hohen Alter selten erreicht (69).
- 2) Unter der Voraussetzung, daß die Mucopolysaccharide an der Sklerosierung wesentlich beteiligt sind, müßte ihre Stoffwechsellage günstiger und infolgedessen die Diffusion, Permeabilität usw. der Venenwand besser sein.

Es war daher von Interesse zu prüfen, wie sich die MPS-depolymerisierenden Enzyme in der Venenwand verhalten und ob eine Beeinflussung durch sklerotische Arterien stattfinden kann (eine Beeinflussung der Adventitia durch arteriosklerotische Umbauvorgänge konnte nachgewiesen werden (66)).

Optimale Stoffwechselleistungen kann die Gefäßwandzelle jedoch nur bewältigen, wenn ihr durch entsprechende Enzymsysteme die nötige Energie zur Verfügung gestellt wird. Untersuchungen dieser Art wurden bereits in der Arterienwand durchgeführt (9,22,23,37,51,52,61,62,71,72,80,93,94,96,102). Die Enzyme des Glucose- und Lipidstoffwechsels fanden besondere Aufmerksamkeit, während nur wenige Untersuchungen über den Proteinstoffwechsel in der Arterienwand vorliegen. Die Mehrzahl der Enzyme des Lmden-Meyerhoff-Zyklus und des Pentosephosphatshunts zeigen in Abhängigkeit von Alter und Arteriosklerose charakteristische Veränderungen, die sich entweder als Aktivitätssteigerungen oder -verminderungen darstellen.

Proteolytische Enzyme (Kathepsine, Leucinaminopeptidase, saure Carboxypeptidase) wurden in der Arterienwand zwar nachgewiesen, nicht aber auf ihre Abhängigkeit

von Alter oder Arteriosklerose geprüft.

Dem Lipoidstoffwechsel kommt in der Entstehung der Arteriosklerose wegen der pathologischen Fettspeicherung der Arterienwand in den Initialstadien eine besondere Bedeutung zu. Sehr gründlich wurden Aktivitätsänderungen der Lipoproteid-Lipasen, Esterasen und Lipasen untersucht.

Die Ergebnisse zeigen, daß die Arterienwand die Fähigkeit zur Synthese von Phospholipiden und Fettsäuren besitzt, jedoch scheint nur ein kleiner Anteil in arteriosklerotischen Wandbezirken aus dem Gefäßwandstoffwechsel selbst zu stammen.

Um einen Vergleich mit den aus der Literatur bekannten Ergebnissen von Aktivitätsmessungen cytoplasmatischer Enzyme in Arterien ziehen zu können, wurden in der vorliegenden Arbeit neben den Aktivitätsmessungen der Glycosaminoglycanohydrolasen in Femoralarterien und -venen die Aktivitäten der cytoplasmatischen Enzyme Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, Glutamat-Pyruvat-Transaminase, Alkalische Phosphatase und Lactat-Dehydrogenase in der Vena femoralis bestimmt.

2.0.0.0. UNTERSUCHUNGSMATERIAL

Die Untersuchungen wurden an menschlichen Femoralarterien und -venen durchgeführt, die unmittelbar nach der Sektion einem unausgewähltem Sektionsmaterial entnommen wurden. Die Einteilung der Gefäße erfolgte in vier Altersgruppen (1-20, 21-40, 41-60 61-80 Jahre) mit gleichmäßiger Geschlechtsverteilung.

Um unnötige Streuungen der Ergebnisse zu vermeiden, wurde versucht, gewählte Bedingungen für Lagerung, Aufarbeitung und Messung konstant zu halten. Mögliche Änderungen der Enzymaktivität post mortem durch unterschiedliche Lagerungszeit und -temperatur konnten unberücksichtigt bleiben (83,89).

2.1.0.0. Präparation und Einteilung der Gefäße

Nach der Sektion wurde an beiden unteren Extremitäten der Abschnitt der Femoralarterie zwischen dem Abgang der A. profunda femoris und dem Eintritt in den Adduktorenkanal entnommen.

Entsprechend reichte der Abschnitt der Vena femoralis vom Austritt aus dem Adduktorenkanal bis zum Zufluß der V. saphena magna.

Die Gefäße wurden von dem anhängenden Gewebe und der Adventitia befreit und nach bestimmten Merkmalen eingeteilt (2.1.1.0., 2.1.2.0.). Die so vorbereiteten Abschnitte der Arterien und Venen mußten bis zur Verarbeitung bei -25°C in der Kühltruhe aufbewahrt werden.

2.1.1.0. Einteilung der Arterien

Die Einteilung wurde nach folgenden makroskopischen Gesichtspunkten vorgenommen (73). Anschließend erfolgte eine histologische Kontrolle der einzelnen Stadien:

Stadium A: unveränderte Arterienwand; die Intima ist zart, glatt und gleichmäßig rötlich gefärbt (s. Abb.).

Stadium B: gelblich-weiße Lipoidoseherde der Intima ("fatty flecks and streaks") (s.Abb.).

Stadium C: helle, perlenartig-erhabene Atherome und MPS-Plaques ("pearly plaques", "fibrous plaques") (s.Abb.).

Stadium D: Kalkeinlagerungen, Ulzerationen, hämorrhagische Wandabschnitte ("complicated lesions") (s.Abb.).

2.1.2.0. Einteilung der Venen

Da der Vene vergleichbare Kriterien fehlen, wurden zur Einteilung die Arterien desselben Individuums herangezogen und nach 2.1.1.0. beurteilt. Die einzelnen Venengruppen erhielten also ebenfalls die Bezeichnungen A, B, C, D, um sie später mit den entsprechenden Arteriengruppen und untereinander vergleichen zu können.

2.2.0.0. Homogenatherstellung

Zur Verarbeitung wurden die bei -25°C eingefrorenen Gefäße bei Zimmertemperatur aufgetaut und in der fünffachen Menge physiologischer NaCl-Lösung aufgenommen. Nun wurde 40 mal 5 Sekunden im Abstand von 25 Sekunden mit einem Ultra-Turrax (Fa. Janke und Kunkel, Staufen) im Kühlbad bei etwa 0°C homogenisiert; so konnten unerwünschte Temperaturerhöhungen des Homogenats vermieden werden.

Das Homogenat wurde 3 mal bei -25°C eingefroren und bei Zimmertemperatur unter mehrmaligem Rühren aufgetaut, anschließend 20 Minuten bei 4°C und 3000 Umdrehungen in der Kühlzentrifuge (MSE Highspeed 18, London, GBR) zentrifugiert. Der Überstand konnte nun, über Mull filtriert, zu Enzymaktivitäts- und Proteinbestimmungen verwandt werden. Das Sediment wurde verworfen.

2.3.0.0. Vorbereitung zur DNS-Bestimmung

Vom frischen Sektionsgut wurde je Arterie bzw. Vene etwa 1-2g entnommen. Diese Proben wurden bei 60°C im Wärmeschränk bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, anschließend sehr fein zerkleinert und bis zur Messung trocken aufbewahrt.

3.0.0.0. METHODIK

3.1.0.0. Bestimmung des Proteingehaltes

Die Proteinkonzentration im Homogenatüberstand wurde mit der Biuret-Methode nach WEICHSELBAUM (104) bestimmt :

Ausführung: 0,2 ml Homogenatüberstand wurde mit 1,8 ml physiologischer NaCl-Lösung verdünnt und nach Zugabe von 2 ml Biuret-Reagenz 20 Minuten bei Zimmertemperatur zur Reaktion stehengelassen. Um störende Trübungen zu beseitigen, mußte 5 Minuten mit der Tischzentrifuge zentrifugiert werden. Die Messung erfolgte im Photometer "Eppendorf" bei 546 nm gegen folgende Leerwerte:

- a) 0,2 ml Homogenatüberstand + 3,8 ml physiologischer NaCl-Lösung,
- b) 2 ml Biuret-Reagenz + 2 ml physiologischer NaCl-Lösung.

Die Berechnungen des Proteingehaltes erfolgten aus den Mittelwerten der durchgeführten Doppelbestimmungen. Eine Eichkurve wurde aus Verdünnungsreihen mit dem Albumin-Gemisch "Lab-Trol" (DADE Reagents Inc., Miami, USA) hergestellt.

Alle erhaltenen Werte liegen im Zuverlässigkeitsbereich dieser Methode zwischen 0,2 und 1,6 mg Protein pro 1 ml Homogenatüberstand.

3.2.0.0. Bestimmung des DNS-Gehaltes

Die quantitative Bestimmung des DNS-Gehaltes wurde in dem nach 2.3.0.0. vorbereiteten Arterien- und Venentrockengewebe nach der Methode von CERIOTTI und KECK (25,50) durchgeführt:

Reagenzien: 0,06%ige Indollösung in aqua dest.,
3 n Salzsäure,
0,5 m Perchlorsäure,
Essigsäure-iso-amylester.

Ausführung: 100 mg des fein gemahlenden Trockengewebes wurden in 8 ml Perchlorsäure aufgenommen und 30 Minuten im Wasserbad bei 90°C hydrolysiert. Anschließend wurde 5 Minuten mit der Tischzentrifuge abzentrifugiert, das Sediment wurde verworfen und 6 ml des abgekühlten Hydrolysates mit Perchlorsäure auf 10 ml aufgefüllt.

2 ml dieser Lösung wurden nach Zugabe von 1 ml Indol-lösung und 1 ml Salzsäure nochmals 10 Minuten bei 90°C inkubiert. Im Wasserbad abgekühlt, wurde das Hydrolysat anschließend zweimal mit Amylacetat kräftig bis zur feinen Dispersion der organischen Phase ausgeschüttelt. Nach vollständiger Trennung der Phasen wurde der Essigsäure-iso-amylester abgehoben und verworfen. Der extrahierte Rückstand wurde zentrifugiert und im Spektralphotometer "Beckman DB-G" bei 490 nm gegen die folgenden Leerwerte gemessen:

- a) 2 ml Hydrolysat + 2 ml Perchlorsäure
- b) 2 ml Perchlorsäure + 1 ml Indollösung + 1 ml Salzsäure

Die notwendigen Eichwerte wurden mit DNS aus Herings-spermien ("niedermolekular, pract., entfettet", Serva Entwicklungslabor, Heidelberg) ermittelt. Das Lambert-Beer'sche Gesetz galt hier bis zu einer maximalen Extinktion von 0,6.

3.3.0.0. Bestimmung der Enzymaktivitäten der Glycosaminoglycano-Hydrolasen

Alle Enzymaktivitäten wurden in den Homogenatüberständen bestimmt. Bei jeder Messung wurde eine Doppelbestimmung durchgeführt und daraus ein Mittelwert berechnet.

Die folgenden Leerwerte wurden mitbestimmt:

- a) Substratleerwert: Substratlösung + Puffer
- b) Enzymleerwert: Ersatz des Substrates durch das entsprechende Lösungsmittel.

3.3.1.0. Hyaluronidase

Als Substrat der Hyaluronidase diente Kaliumhyaluronat aus Hahnenkämmen, das nach der Methode von BUDECKE gewonnen wurde (18,19).

Die Bestimmungen wurden mit folgendem Ansatz durchgeführt (21) :

0,5 mg Kaliumhyaluronat wurde in 0,15 ml aqua dest. gelöst und nach Zugabe von 0,3 ml Homogenatüberstand bei 37°C inkubiert.

Mit der anschließend durchgeführten, modifizierten MORGAN-ELSON-Reaktion (92) konnte trotz sehr langer Inkubationszeit (mindestens 16 Stunden) kein freigesetztes N-Acetylglucosamin nachgewiesen werden. Da zumeist nur sehr wenig Homogenat vorhanden war und deshalb eine statistische Verwertung der Ergebnisse nicht möglich gewesen wäre, wurden Versuche zur Anreicherung der Hyaluronidase (Fällung und Chromatographie) unterlassen (21,32,56,57,83).

3.3.2.0. β -Glucuronidase

Die Bestimmung der β -Glucuronidase-Aktivitäten wurde mit Phenolphthalein-mono- β -Glucuronid (Sigma Chemicals Co., St.Louis, USA) als Substrat (103) nach der von FISHMAN (36) angegebenen, nach DOHRMANN (30) modifizierten Methode durchgeführt.

Die Teströhrchen enthielten 0,9 ml einer 0,01 m Phenolphthalein-mono- β -Glucuronid-Lösung, mit Na-Acetat auf pH 5,2 eingestellt, und 0,1 ml Homogenatüberstand. Nach einer Inkubation von 2 Stunden bei 37°C im Wasserbad wurden zur Unterbrechung der Reaktion und zur Farbentwicklung des Phenolphthaleins im alkalischen Milieu 2,5 ml Glycinpuffer nach SÖRENSEN (0,4 m, pH 10,45) zugegeben und anschließend scharf abzentrifugiert.

Die Messung des freigesetzten Aglycons wurde dann im Photometer "Eppendorf" bei 546 nm etwa 10-20

Minuten nach Zugabe des Glycinpuffers durchgeführt. Eine Eichkurve wurde mit in Alkohol gelöstem Phenolphthalein, das mit Acetatpuffer verdünnt worden war, angelegt.

Als Einheit der β -Glucuronidase-Aktivität wurde 1 Unit (=1000 mU) festgelegt. 1 Unit ist die Enzymaktivität, die in einer Minute bei 37°C je mg Protein den Umsatz von 1 Mikromol Substrat katalysiert. Im DNS-Bezugssystem wurde als Einheit der β -Glucuronidase die Extinktion bei 546 nm nach 2stündiger Inkubationszeit bei 37°C pro μ g DNS gewählt.

3.3.3.0. β -Acetylglucosaminidase

Die Bestimmung der β -Acetylglucosaminidase-Aktivität erfolgte mit Phenyl-N-acetyl- β -D-Glucosaminid als Substrat (105).

Die Teströhrchen enthielten 0,9 ml einer 0,025 m Lösung, mit Citrat-Phosphat-Puffer auf pH 4,4 eingestellt, und 0,1 ml Homogenatüberstand. Nach zweistündiger Inkubation bei 37°C wurde durch Zugabe von 2 ml einer im Verhältnis 1 : 3 mit aqua dest. verdünnten Lösung des Phenolreagenzes nach FOLIN-CIOCALTEU die Reaktion beendet. Das ausgefällte Protein wurde abzentrifugiert und 2 ml des abgeheberten Überstandes ergaben mit 3 ml einer 12%igen Natriumcarbonatlösung eine Blaufärbung, deren vollständige Entwicklung nach einer weiteren Inkubation von 20 Minuten bei 37°C beendet war. Die Extinktion wurde bei 650 nm im Photometer "Beckman DB-G" gemessen (91).

Zur Berechnung der freigesetzten Phenolmengen wurde eine Eichkurve durch in Citratpuffer gelöstes Phenol hergestellt.

Als Einheit der β -Acetylglucosaminidase-Aktivität wurde ebenfalls 1 Unit (=1000 mU) festgelegt. 1 U ist die Aktivität, die bei einem pH von 4,4 und

37°C in 1 Minute 1 Mikromol Phenol pro mg Protein freisetzt. .

Das Maß für die Aktivität der β -Acetylglucosaminidase im DNS-Bezugssystem war:

Extinktion bei 650 nm nach zweistündiger Inkubation bei 37°C pro μ g DNS.

3.4.0.0. Aktivitätsbestimmung der cytoplasmatischen Enzyme

Alle benützten Reagenzien stammen von der Fa.C.F. Boehringer + Söhne GmbH, Mannheim (Biochemica Test-combinationen).

3.4.1.0. Glutamat-Oxalacetat-Transaminase

Die Bestimmungen wurden nach der Methode von KARMEN et al. durchgeführt (48).

Die Reagenzgläser enthielten:

3 ml Phosphatpuffer (0,1m, pH 7,4) mit L-Aspartat (0,04 m),

0,05 ml einer NADH-Lösung (0,12 m),

0,05 ml gelöstes MDH/LDH (je 0,25 mg/ml).

Nach Zugabe von 0,5 ml Homogenatüberstand wurde der Inhalt der Röhrchen gut gemischt und 5 Minuten bei 25°C im Wasserbad inkubiert. Danach konnte die α -Ketoglutarat-Lösung (0,25 m) zugegeben und bei 366 nm im Photometer "Eppendorf" die Extinktion abgelesen werden. Das Ablesen wurde nach 1, 2 und 3 Minuten wiederholt und aus den Extinktionsdifferenzen pro Minute (proportional der NADH-Abnahme) ein Mittelwert gebildet, der zur weiteren Berechnung eingesetzt wurde.

Als Einheit der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase wurde 1 Unit (=1000 mU) gewählt. 1 U ist die Enzymaktivität, die bei 25°C 1 Mikromol Substrat in 1 Minute umsetzt, bezogen auf 1 ml Homogenatüberstand.

3.4.2.0. Glutamat-Pyruvat-Transaminase

Die Bestimmungen erfolgten hier nach der Methode von WROBLEWSKI und LADUE (108) :

Reagenzien: 3 ml Phosphatpuffer (0,1 m, pH 7,4)
mit DL-Alanin (0,08 m),
0,05 ml einer NADH-Lösung (0,12 m),
0,05 ml gelöstes LDH (0,25 mg/ml),
0,1 ml α -Ketoglutaratlösung (0,25 m).

Die Aktivitätsbestimmungen erfolgten analog der bei der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase beschriebenen Methode.

3.4.3.0. Alkalische Phosphatase

Als Substrat zur Bestimmung der alkalischen Phosphatase diente p-Nitrophenylphosphat (5).

1 ml eines Glycinpuffers (0,05 m, pH 10,5), in dem Magnesiumchlorid (0,0005 m) und p-Nitrophenylphosphat (0,055 m) gelöst waren, wurde mit 0,1 ml Homogenatüberstand im Teströhrchen gut gemischt und 30 Minuten bei 37°C im Wasserbad inkubiert. Danach wurden zum Nachweis des entstandenen p-Nitrophenols (proportional der alkalischen Phosphatase) 10 ml Natronlauge (0,02 n) hinzugegeben. Die Extinktion der entstehenden Gelbfärbung konnte nun bei 405 nm im Photometer "Eppendorf" gemessen werden. Der Mittelwert der Doppelbestimmungen wurde zur weiteren Berechnung eingesetzt. Die Einheit 1 Unit (=1000 mU) ist die APH-Aktivität, die ein Mikromol p-Nitrophenylphosphat bei 37°C in 1 Minute umsetzt. Bezugsmenge war 1 ml Homogenatüberstand.

3.4.4.0. Lactat-Dehydrogenase

Die Bestimmung der Lactat-Dehydrogenase wurde nach der von WROBLEWSKI und LADUE angegebenen Methode durchgeführt (107) :

Die Teströhrchen enthielten 3 ml Phosphatpuffer (0,05 m, pH 7,5), in dem Pyruvat (0,00031 m) gelöst war, und 0,05 ml einer NADH-Lösung (0,009 m). Nach Zugabe von 0,1 ml Homogenatüberstand wurde mit einem Spatel gut durchgemischt und sofort die Extinktion bei 366 nm im Photometer "Eppendorf" abgelesen. Weitere Messungen erfolgten nach 1, 2, 3 Minuten; der Mittelwert der Extinktionsdifferenzen pro Minute wurde zur Berechnung der Aktivität verwandt.

1 Unit (=1000 mU) ist die Lactat-Dehydrogenase-Aktivität, die bei 25°C 1 Mikromol Substrat in 1 Minute umsetzt, bezogen auf 1 ml Homogenatüberstand.

4.0.0.0. TABELLARISCHE DARSTELLUNG DER ERGEBNISSE

Um die gemessenen Werte der statistischen Auswertung zuführen zu können, mußten - der Thematik dieser Arbeit gemäß - Arterien und Venen sowohl nach Altersgruppen (2.0.0.0.) als auch nach anderen Gesichtspunkten (2.1.1.0.)(2.1.2.0.) eingeteilt werden.

4.1.0.0. Enzymaktivitäten der Arterien

4.1.1.0. Enzymaktivitäten im Protein-Bezugssystem

Als Einheit aller hier aufgeführten Werte wurde mU (siehe 3.3.0.0.) gewählt.

ENZYMBEZEICHNUNG		B - GLUCURONIDASE				B - ACETYLGLUCOSAMINIDASE			
ARTERIOSKLEROSE-STADIEN		A	B	C	D	A	B	C	D
ALTERSGRUPPEN	1 - 20	1,04				43,5			
		0,79				24,9			
		0,70				15,6			
		0,55				15,0			
		0,53				14,5			
		0,51				12,2			
		0,25				12,2			
		0,18				11,9			
	21 - 40	0,56	0,59			23,2	23,2		
		0,49				20,6			
		0,36				17,4			
		0,35				16,8			
		0,25				13,5			
	41 - 60	0,70	0,74	1,70	3,0	22	27,8	62	108
		0,60	0,53	1,18		17	24,6	51	
		0,49	0,46	0,77		16,8	18,8	43,5	
		0,41	0,35	0,68		16	16,9	33,6	
		0,36	0,34	0,66		14,5	16,6	30,4	
		0,28	0,34	0,65		14	13,8	29	
		0,28	0,32	0,59		11,6	12,8	23,2	
	61 - 80	0,44	0,55	1,54	2,8	21,9	31,2	78,5	125
		0,36	0,53	1,26	2,24	15,6	28,4	40	107
			0,48	0,7	1,5		24,0	29,5	82
			0,48	0,53	1,12		23,6	25,8	58
			0,43	0,52	0,67		22,4	24,3	29
			0,42	0,38			22	19,8	
			0,39	0,34			21,8	15,6	
			0,36				20,2		
			0,35				17,2		
			0,34				15,0		
			0,32				13,3		
			0,29				11,9		
			0,26				11,6		

4.1.2.0. Enzymaktivitäten im DNS-Bezugssystem

Alle hier aufgeführten Enzymaktivitäten erhielten die Einheit Ext/ μ g DNS (siehe 3.3.0.0.) .

ENZYMBEZEICHNUNG		B - GLUCURONIDASE				B - ACETYLGLUCOSAMINIDASE			
ARTERIOSKLEROSE-STADIEN		A	B	C	D	A	B	C	D
ALTERSGRUPPEN	1 - 20	0,26 0,24 0,23 0,14 0,11 0,11 0,08 0,05				2,7 2,2 1,55 1,23 0,9 0,8 0,72 0,7			
	21 - 40	0,17 0,16 0,16 0,12 0,12	0,23			2,1 1,6 1,55 1,45 1,4	2,17		
	41 - 60	0,3 0,23 0,15 0,14 0,1 0,09 0,07	0,22 0,15 0,14 0,1 0,09 0,08 0,07	0,74 0,28 0,24 0,24 0,18 0,16 0,16	0,14	1,73 1,45 1,36 1,25 1,1 1,0 0,9	2,1 1,47 1,2 1,0 0,96 0,96 0,9	6,6 3,3 2,9 2,2 1,8 1,7 1,5	1,2
	61 - 80	0,27 0,22 0,2 0,19 0,18 0,16 0,15 0,15 0,14 0,14 0,13 0,09	0,3 0,17 0,16 0,16 0,13 0,09	0,27 0,32 0,22 0,06	1,0	3,0 3,0 2,75 2,34 1,9 1,85 1,83 1,8 1,75 1,5 1,4 1,24 0,8	3,0 2,15 1,95 1,4 1,3 1,0	11 4,4 2,7 0,63	

4.2.0.0. Enzymaktivitäten der Venen

4.2.1.0. Enzymaktivitäten im Proteinbezugssystem

Die Werte der Tabelle haben die Einheit mU (siehe 3.3.0.0.) .

ENZYMBEZEICHNUNG		B - GLUCURONIDASE				B - ACETYLGLUCOSAMINIDASE			
GRUPPEN		A	B	C	D	A	B	C	D
ALTERSGRUPPEN	1 - 20	1,1				40,5			
		0,94				30			
		0,7				23,2			
		0,55				16,5			
	21 - 40	0,93	0,58			32,5	20		
		0,93				25			
		0,66				25			
		0,6				22			
		0,59				21			
		0,55				12,8			
	41 - 60	0,92	1,1	1,16		34,2	37,2	40,5	
		0,77	0,76	1,05		27,8	34,6	37	
		0,53	0,48	0,84		18,5	15,7	31,8	
		0,52	0,39	0,69		18,4	12,8	21,4	
		0,42	0,39			13,3	11,8		
		0,42				13,3			
	61 - 80	0,83	2,83	2,03	1,3	48	156	64	48
			0,83	0,97	0,88		43,2	55,5	32,4
			0,81	0,93	0,6		30,6	26,8	29
			0,79	0,81			25	25	
			0,63	0,44			22,8	22	
			0,51	0,38			16,8	17	

4.2.2.0. Enzymaktivitäten im DNS-Bezugssystem

Die Einheit aller Werte der Tabelle ist Ext/ μg DNS
(siehe 3.3.0.0.) .

ENZYMBEZEICHNUNG		B - GLUCURONIDASE				B - ACETYLGLUCOSAMINIDASE			
GRUPPEN		A	B	C	D	A	B	C	D
ALTERSGRUPPEN	1 - 20	0,71 0,46 0,28 0,13				5,5 3,86 2,5 1,1			
	21 - 40	0,52 0,49 0,44 0,29 0,26 0,25	0,47			4,4 3,75 3,2 2,4 2,2 1,65	4,0		
	41 - 60	0,31 0,26 0,25 0,13 0,13	0,6 0,27 0,27 0,17 0,1	0,72 0,49 0,4 0,38		2,8 2,2 2,13 1,14 1,0	3,8 2,65 2,1 1,4 0,67	6,0 4,4 3,2 3,0	
	61 - 80		0,48 0,41 0,29 0,25 0,24	1,1 0,6 0,39 0,29 0,16	0,48 0,33 0,12	3,86 3,8 2,8 2,1 1,9	6,3 5,3 4,9 4,4 1,5	4,4 2,9 1,34	

4.2.3.0. Enzymaktivitäten der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, Glutamat-Pyruvat-Transaminase, Alkalischen Phosphatase und Lactat-Dehydrogenase.

Als Einheit dieser Enzymaktivitäten wurde mU/ml Homogenatüberstand gewählt (siehe 3.4.0.0.) .

ENZYMBEZEICHNUNG		G O T				G P T				A Ph				L' D H			
GRUPPEN		A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
ALTERSGRUPPEN	1 - 20	324 172 160				107 80 37,7				48,4 33,7 9,5				4110 1020 714			
	21 - 40	212 212 192 172 163 144	202			40,5 25,5 21,2 21,2 20,2 16,3	32,4			43,4 38,5 33,7 23,9 23,9 23,9	58,3			1840 955 915 867 824 195	1770		
	41 - 60	350 163 144 106 71,4 26,6	266 134 106 64 62	115 115 83,2 64		23,3 21,2 18,4 17,2 15,3 14,4	64 40,5 37,7 35 15,3	20,2 13,4 13,4 12,5		53,3 38,5 23,9 23,9 19,1 19,1	38,5 33,7 28,8 23,9 23,9	38,5 23,9 14,3 14,3		1250 1210 300 53 52,6 11,7	920 595 233 148 59	1080 955 714 200	
	61 - 80	8,8 300 163 153 102 36,3	312 86,6 77 64 59 35	106 25,5 7,5		6,2 57,5 36,3 30 22,7 17,2 8,8	51,8 22,7 20,3 20,2 16,3 15,2	28,8 21,2 8,8		63,4 275 105 84,1 19,1 14,3 14,3	230 48,4 43,4 43,4 23,9 19,1	105 48,4 14,3		40,9 2890 1620 955 714 117 58	2890 1210 1140 892 376	1210 59 35	1080

5.0.0.0. STATISTIK

Die im vorigen Kapitel tabellarisch dargestellten Ergebnisse können nur kleine Stichproben der jeweiligen Grundgesamtheit sein. Die analytische Statistik hat die Aufgabe, auf der Basis dieser Stichproben allgemeingültige Aussagen machen zu können, und die eigenen Beobachtungen gegen den Vorwurf abzusichern, sie seien rein zufällig zustande gekommen.

Um der statistischen Aufschlüsselung ohne Vorbehalte zugeführt werden zu können, müssen die Stichproben Zufallsstichproben sein, d.h. jeder Teil der Grundgesamtheit muß die gleiche Möglichkeit haben, ausgewählt zu werden (95).

Zur Anwendung der folgenden Tests war eine Normalverteilung der Meßergebnisse notwendig. Prüfung der Normalität erfolgte nach dem Verfahren von DAVID und Mitarbeitern (1954) :

$$\frac{\text{Spannweite (R)}}{\text{Standardabweichung (s)}} \quad (95)$$

R = Differenz zwischen dem höchsten und niedrigsten Wert einer Gruppe.

s = Standardabweichung (siehe 5.1.2.0.).

Die Abbildungen (1-5, 8-18) der Korrelationen wurden jeweils selbst mit statistischen Daten versehen, während die Ergebnisse der t- und F-Tests der Gruppenvergleiche in mehreren Tabellen in Kapitel 6.0.0.0. zusammengestellt sind.

Bei der nun folgenden Darstellung der angewandten Formeln wurde auf einzelne Literaturangaben verzichtet, da auf ihren Anwendungsbereich, ihre Ableitung und auf kritische Betrachtungen in den Fachbüchern übereinstimmend eingegangen wird (28,29,64,95,100)

5.1.0.0. Schätzwerte der Stichproben

Es handelt sich um Grundgrößen der Stichproben, die zur Berechnung der statistischen Wahrscheinlich-

keit notwendig sind. Die Schätzwerte $\bar{x}$, s und r der Stichproben sollen im günstigsten Fall mit den Parametern μ, σ, ρ der Grundgesamtheiten übereinstimmen; nur so können Rückschlüsse auf diese Grundgesamtheiten gezogen werden.

5.1.1.0. Mittelwert $\bar{x}$

Das arithmetische Mittel $\bar{x}$ einer Stichprobe ist die Summe Sx aller Einzelwerte x , dividiert durch die Anzahl N der Einzelwerte :

$$\bar{x} = \frac{Sx}{N} \quad (1)$$

5.1.2.0. Standardabweichung s

Die Standardabweichung ist der Wurzel aus dem Mittelwerte der quadrierten Abweichungen gleichzusetzen. Bei kleinen Stichprobenumfängen gilt :

$$s = \sqrt{\frac{Sx^2}{N} - \frac{(Sx)^2}{N^2}} \quad (2)$$

Sx^2 = Summe der quadrierten Einzelwerte

$(Sx)^2$ = Summe aller Einzelwerte im Quadrat

N = Anzahl der Einzelwerte der Stichprobe

5.1.2.1. Varianz s^2

Die Varianz ist definitionsgemäß das Quadrat der Standardabweichung :

$$s^2 = \frac{Sx^2}{N} - \frac{(Sx)^2}{N^2} \quad (3)$$

5.1.2.2. Gemeinsame Standardabweichung

Entsprechend Formel (2) wurde für den t-Test eine gemeinsame Standardabweichung für zwei zu vergleichende, unabhängige Stichproben berechnet :

$$S = \sqrt{\frac{Sx_1^2 - \frac{(Sx_1)^2}{N_1} + Sx_2^2 - \frac{(Sx_2)^2}{N_2}}{N_1 + N_2 - 2}} \quad (4)$$

Sx_1^2 = Summe der quadrierten Einzelwerte der
1. Stichprobe

Sx_2^2 = Summe der quadrierten Einzelwerte der
2. Stichprobe

$(Sx_1)^2$ = Summe aller Einzelwerte im Quadrat
(1. Stichprobe)

$(Sx_2)^2$ = Summe aller Einzelwerte im Quadrat
(2. Stichprobe)

N_1 bzw. N_2 = Anzahl der Einzelwerte der 1. bzw.
2. Stichprobe

5.1.3.0. Korrelationskoeffizient r

Durch den Korrelationskoeffizienten r kann der Grad eines Zusammenhanges zwischen zwei Stichproben errechnet werden. r ist ein Maß für den linearen Zusammenhang zwischen zwei Zufallsvariablen :

$$r = \frac{Sxy - \frac{(Sx)(Sy)}{N}}{\sqrt{Sx^2 - \frac{(Sx)^2}{N}}} \sqrt{Sy^2 - \frac{(Sy)^2}{N}} \quad (5)$$

Sxy = Summe aller Produkte $x \cdot y$

Sx = Summe aller Einzelwerte x

Sy = Summe aller Einzelwerte y

Sx^2 = Summe aller quadrierten Einzelwerte x

Sy^2 = Summe aller quadrierten Einzelwerte y

N = Anzahl der Wertepaare x - y

5.1.3.1. Regressionsgerade

In den Abbildungen (1-5, 8-18) wurden Regressionsgeraden eingezeichnet, die im einfachen, rechtwinkligen Koordinatensystem die Gleichung $y = bx + a$ haben. Obwohl in den Abbildungen (3-5, 8-11, 16-18) sowohl x als auch y Zufallsvariable sind, wurde in allen Fällen nur die geschätzte Regressionsgerade zur Voraussage von y aus x eingezeichnet, um die Kurven übersichtlich zu halten. Die Berechnung des Regressionskoeffizienten b (Steigung der Geraden) erfolgte nach der Formel:

$$b_x = \frac{S_{xy} - \frac{(S_x)(S_y)}{N}}{S_x^2 - \frac{(S_x)^2}{N}} \quad (6)$$

a (Schnittpunkt mit der Ordinate) wurde errechnet nach :

$$a = \bar{y} - b\bar{x} \quad (7)$$

$\bar{x}$ = arithmetisches Mittel aller Einzelwerte x

$\bar{y}$ = arithmetisches Mittel aller Einzelwerte y

5.2.0.0. Bestimmung der statistischen Wahrscheinlichkeit

Zur Prüfung von Stichprobenunterschieden muß zunächst die sogenannte Nullhypothese aufgestellt werden, d.h. die Annahme, daß kein echter, sondern ein rein zufälliger Unterschied vorliege. Geprüft wird dann die Wahrscheinlichkeit (p) dieser Hypothese. Ist p sehr klein, kann die Nullhypothese verworfen werden.

In dieser Arbeit wurden folgende Signifikanzniveaus gewählt :

nicht signifikant ist $p > 0,05$

leicht signifikant ist $0,01 < p < 0,05$

signifikant ist $0,001 < p < 0,01$

hoch signifikant ist $p < 0,001$

5.2.1.0. Beurteilung des Korrelationskoeffizienten

Die Zufälligkeit, mit der ein bestimmter Wert von r auftritt, kann anhand der STUDENT-Verteilung beurteilt werden :

$$t = |r| \sqrt{\frac{N-2}{1-r^2}} \quad (8)$$

$|r|$ = absoluter Wert des Korrelationskoeffizienten

N = Anzahl der Wertepaare $x - y$

FG (Freiheitsgrad) = $N - 2$

5.2.2.0. t - Test (Vergleich der Mittelwerte $\bar{x}$)

In diesem Fall standen zum Vergleich unabhängiger Stichproben verschiedene Testmöglichkeiten zur Wahl. Bei den gegebenen Bedingungen erschien folgender Test als günstig und zweckmäßig :

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{s} \sqrt{\frac{N_1 \times N_2}{N_1 + N_2}} \quad (9)$$

$\bar{x}_1$ bzw. $\bar{x}_2$ = arithmetisches Mittel der 1. bzw.
2. Stichprobe

s = gemeinsame Standardabweichung der beiden
Stichproben (siehe Formel (4))

FG (Freiheitsgrad) = $N_1 + N_2 - 2$

5.2.3.0. F - Test (Vergleich der Varianzen s^2)

Hier wurde der Prüfquotient F berechnet nach :

$$F = \frac{s_1^2}{s_2^2} \quad (10)$$

s_1^2 = größere Varianz der beiden Stichproben

s_2^2 = kleinere Varianz der beiden Stichproben

FG_1 (Freiheitsgrad) des Zählers = $N_1 - 1$

FG_2 (Freiheitsgrad) des Nenners = $N_2 - 1$

6.0.0.0. ERGEBNISSE

6.1.0.0. Korrelationsstatistische Ergebnisse der Enzymaktivitätsmessungen an Femoralarterien

6.1.1.0. Enzymaktivitäten in Abhängigkeit vom Alter

Um zu sehen, ob die Aktivitäten der Enzyme sich in Abhängigkeit vom Alter ändern, wurden die Wertepaare korrelationsstatistisch bearbeitet; es galt, ein gleichsinniges Verhalten zwischen Alter und Enzymaktivitäten auszuschließen.

6.1.1.1. β -Glucuronidase (Abb.1)

Hier standen 22 Wertepaare zur Verfügung, deren Korrelationskoeffizient mit $r = -0,35$ berechnet wurde. Bei $p < 0,2$ kann ein Zusammenhang zwischen Alter und β -Glucuronidase-Aktivität nahezu ausgeschlossen werden.

Die Gleichung der Regressionsgeraden lautet :

$$y = -0,004x + 0,615$$

6.1.1.2. β -Acetylglucosaminidase (Abb.2)

Aus 22 Wertepaaren wurde der Korrelationskoeffizient als $r = -0,006$ errechnet. Da $p < 0,98$ lassen sich die gleichen Aussagen machen wie unter 6.1.1.1.. Gleichung der Regressionsgeraden: $y = -0,002x + 17,87$

6.1.2.0. Korrelation zwischen β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase (Abb.3)

Aus 63 Wertepaaren wurde $r = 0,38$ bestimmt. Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,005$ kann also das Verhalten beider Enzyme als korreliert betrachtet werden.

Die Ausrechnung der Regressionsgleichung ergab:

$$y = 41x + 1,6$$

6.1.3.0. Korrelation der Enzymaktivitäten in zwei verschiedenen Bezugssystemen

Mit dieser Korrelation sollte untersucht werden, ob Enzymaktivitäten im Protein-Bezugssystem (mU) sich anders verhalten als im DAS-Bezugssystem (Ext/ μ g DAS).

6.1.3.1. β -Glucuronidase (Abb.4)

Die statistische Auswertung von 59 Wertepaaren ergab $r = 0,52$, das entspricht einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,001$.

Die Regressionsgerade hat die Gleichung:

$$y = 2x + 0,29$$

6.1.3.2. β -Acetylglucosaminidase (Abb.5)

Es wurden ebenfalls 59 Wertepaare bearbeitet. Der Korrelationskoeffizient war in diesem Fall $r = 0,56$ entsprechend einem $p < 0,001$.

Als Gleichung der Geraden ergab sich:

$$y = 8,7x + 11,8$$

STATISTISCHE AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE : ARTERIEN

KAPITEL	ENZYM	GRUPPEN	GRUNDGROSSEN			GRUPPEN- VERGLEICHE	t - TEST			F - TEST	
			$\bar{x}$	s^2	N		s	t	p	F	p
4.1.1.0.	β - GLUCURONIDASE	A	0,48	0,05	22	A/B	0,15	1,31	<0,2	5	<0,01
		B	0,42	0,01	21	A/C	0,31	3,21	<0,005	3,6	<0,01
						A/D	0,45	6,8	<0,001	18	<0,01
						B/C	0,28	4,15	<0,001	18	<0,01
		D	1,9	0,9	6	B/D	0,43	7,4	<0,001	90	<0,01
						C/D	0,62	3,6	<0,005	5	<0,01
	β - ACETYL - GLUCOSAMINIDASE	A	17,8	47,5	22	A/B	6,35	1,08	<0,3	1,44	>0,05
		B	19,9	33	21	A/C	12,1	4,35	<0,001	6,5	<0,01
						A/D	17	8,6	<0,001	27,5	<0,01
		C	36,2	307	14	B/C	11,9	3,97	<0,001	9,3	<0,01
B/D						16,9	7,73	<0,001	39,6	<0,01	
D	84,9	1306	6	C/D	24,2	4,1	<0,001	4,3	<0,05		
4.1.2.0.	β - GLUCURONIDASE	A	0,16	0,005	21	A/B	0,06	0	-	1,7	>0,05
						A/C	0,11	1,9	<0,1	5,6	<0,01
		B	0,16	0,003	20	A/D	0,17	2,3	<0,05	30	<0,01
						B/C	0,1	2,15	<0,05	9,2	<0,01
		D	0,35	0,15	5	B/D	0,17	2,3	<0,05	50	<0,01
						C/D	0,24	0,95	<0,4	5,4	<0,05
	β - ACETYL - GLUCOSAMINIDASE	A	1,46	0,38	21	A/B	0,6	0,96	<0,4	1	>0,05
						A/C	1,0	2,7	<0,02	5,8	<0,01
		B	1,65	0,37	20	A/D	1,5	3,42	<0,005	33,3	<0,01
						B/C	1,0	2,1	<0,05	5,9	<0,01
		C	2,4	2,2	13	B/D	1,6	3	<0,01	33,8	<0,01
						C/D	2,1	1,45	<0,2	5,7	<0,01
		D	4,0	12,5	5						

6.2.0.0. Enzymaktivitäten der Arterien in Abhängigkeit von arteriosklerotischen Veränderungen

Hier wurden bei beiden Enzymen jeweils 63 Aktivitätsmessungen vorgenommen. Die Ergebnisse konnten in vier Stadien (A, B, C, D siehe 2.1.1.0.) eingeteilt werden ohne Berücksichtigung der Altersgruppen, da eine altersabhängige Aktivitätsänderung der Enzyme nicht vorliegt (6.1.1.0.) .

Bei allen Stichprobenvergleichen, die in dieser Arbeit gemacht wurden, konnte nie der t-Test für abhängige Stichproben (Paardifferenzen) angewandt werden. Der Grund dafür war, daß aus einer Arterie nur jeweils ein Stadium A, B, C oder D gewonnen werden konnte, das genügend Material zum Homogenisieren bot. Vor allem beim Vergleich zwischen den Gruppen A / B hätte dieser Test wohl bessere Ergebnisse gebracht.

6.2.1.0. Enzymaktivitäten im Protein-Bezugssystem

6.2.1.1. β -Glucuronidase (Abb.6)

Die statistischen Berechnungen ergaben :

- a) signifikante Zunahme des Mittelwertes von Stadium A nach Stadium C ,
- b) hoch signifikante Zunahme des Mittelwertes von Stadium A nach Stadium D ,
- c) hoch signifikante Zunahme des Mittelwertes von Stadium B nach Stadium C ,
- d) hoch signifikante Zunahme des Mittelwertes von Stadium B nach Stadium D ,
- e) signifikante Zunahme des Mittelwertes von Stadium C nach Stadium D ,
- f) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Stadien A und B ,
- g) signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Stadien A und C ,

- h) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Stadien A und D ,
- i) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Stadien B und C ,
- k) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Stadien B und D ,
- l) signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Stadien C und D .

Sowohl der t-Test als auch der F-Test brachten hier Ergebnisse, die darauf hinweisen, daß arteriosklerotische Wandbezirke wesentlich höhere Enzymaktivitäten der β -Glucuronidase aufweisen als unveränderte. Auch arteriosklerotische Veränderungen untereinander zeigen deutliche Unterschiede.

6.2.1.2. β -Acetylglucosaminidase (Abb.7)

Die statistische Beurteilung ergab :

- a) hoch signifikante Zunahme des Mittelwertes von Stadium A nach Stadium C ,
- b) hoch signifikante Zunahme des Mittelwertes von Stadium A nach Stadium D ,
- c) hoch signifikante Zunahme des Mittelwertes von Stadium B nach Stadium C ,
- d) hoch signifikante Zunahme des Mittelwertes von Stadium B nach Stadium D ,
- e) hoch signifikante Zunahme des Mittelwertes von Stadium C nach Stadium D ,
- f) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Stadien A und C ,
- g) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Stadien A und D ,
- h) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Stadien B und C ,

i) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Stadien B und D ,

k) leicht signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Stadien C und D .

Diese Ergebnisse lassen die gleichen Aussagen zu, wie sie unter 6.2.1.1. gemacht wurden. Auch hier beeinflussen die verschiedenen Stadien die Enzymaktivität deutlich.

6.2.2.0. Enzymaktivitäten im DNS-Bezugssystem

Hier können im wesentlichen die gleichen Aussagen gemacht werden wie unter 6.2.1.0. . Dies war nicht anders zu erwarten, da sich beide Enzyme in beiden Bezugssystemen korreliert verhalten. Jedoch liegen die Irrtumswahrscheinlichkeiten deutlich höher.

6.3.0.0. Korrelationsstatistische Ergebnisse der Femoralvenen

6.3.1.0. Korrelation zwischen β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase im Protein-Bezugssystem (Abb.8)

Um ein gleichsinniges Verhalten der Enzyme zu untersuchen, wurden 42 Wertepaare statistisch bearbeitet. Ihr Korrelationskoeffizient berechnete sich auf $r = 0,93$ entsprechend einem $p < 0,001$. Auch hier ist also der Zusammenhang der beiden Enzyme hoch signifikant.

Die Gleichung der Regressionsgeraden lautet :

$$y = 48,8x - 8,7$$

6.3.2.0. Korrelation zwischen β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase im DNS-Bezugssystem (Abb.9)

Aus 38 Wertepaaren errechnete sich $r = 0,9$. Da $p < 0,001$ sind auch in diesem System beide Enzyme hoch korreliert.

Regressionsgeradengleichung : $y = 6,4x + 0,64$

6.3.3.0. Korrelation zwischen Enzymaktivitäten in zwei verschiedenen Bezugssystemen

Hier sollte festgestellt werden, ob sich die Enzymaktivitäten in beiden Bezugssystemen deutlich unterschiedlich verhalten. Kann eine Korrelation nicht gezeigt werden, müssen alle gemessenen Werte - im Gegensatz zu den Arterien - in beiden Bezugssystemen ausgerechnet und statistisch ausgewertet werden.

6.3.3.1. B-Glucuronidase (Abb.10)

Die zur Verfügung stehenden 38 Wertepaare ergaben den Korrelationskoeffizienten $r = 0,25$. Bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p \leq 0,2$ ist diese Korrelation nicht signifikant.

Die Gleichung der Regressionsgeraden ist :

$$y = 0,51x + 0,53$$

6.3.3.2. B-Acetylglucosaminidase (Abb.11)

Auch hier wurden 38 Wertepaare statistisch bearbeitet. Die gleiche Aussage wie unter 6.3.3.1. kann gemacht werden, da $r = 0,29$ entsprechend einem $p \leq 0,1$ errechnet wurde.

Regressionsgleichung : $y = 4,6x + 16$

6.3.4.0. Cytoplasmatische Enzyme in Abhängigkeit vom Alter

In diesem Kapitel sollte untersucht werden, ob die Aktivitäten von Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, Glutamat-Pyruvat-Transaminase, alkalischer Phosphatase und Lactat-Dehydrogenase altersabhängige Veränderungen aufweisen oder ob sie sich wie die Glycosaminoglycano-Hydrolasen verhalten.

6.3.4.1. Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (Abb.12)

Es wurden 41 Wertepaare statistisch ausgewertet. Die negative Korrelation war bei einem $r = -0,52$

und einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,001$ hoch signifikant. Mit zunehmendem Alter fällt also die Aktivität der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase stark ab.

Gleichung der Regressionsgeraden :

$$y = -2,8x + 238$$

6.3.4.2. Glutamat-Pyruvat-Transaminase (Abb.13)

Bei 41 Wertepaaren ergab sich aus der statistischen Schätzung ein Korrelationskoeffizient von $r = -0,45$. Bei einem $p < 0,01$ wurde eine negative, signifikante Korrelation festgestellt. Die gleichen Aussagen wie bei der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase lassen sich auch hier machen.

Die Regressionsgeradengleichung lautet :

$$y = -0,53 + 57$$

6.3.4.3. Alkalische Phosphatase (Abb.14)

Aus 41 Wertepaaren wurden folgende Ergebnisse berechnet: $r = 0,26$, $p < 0,1$. Eine Korrelation zwischen Alter und alkalischer Phosphatase besteht also mit großer Wahrscheinlichkeit nicht.

Gleichung der Regressionsgeraden :

$$y = 0,8x + 3,5$$

6.3.4.4. Lactat-Dehydrogenase (Abb.15)

Der Korrelationskoeffizient errechnete sich aus ebenfalls 41 Wertepaaren zu $r = -0,33$; das entspricht einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0,05$.

Auch hier kann eine leicht signifikante Korrelation mit abnehmender Tendenz festgestellt werden. Die Aktivitäten der Lactat-Dehydrogenase fallen mit zunehmendem Alter ab.

Als Regressionsgerade ergab sich : $y = -15,8x + 1672$

6.3.5.0. Korrelation zwischen Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und Glutamat-Pyruvat-Transaminase (Abb.16)

41 Wertepaare wurden hier statistisch bearbeitet. Erwartungsgemäß ergab sich bei $r = 0,52$ und $p < 0,001$ eine hoch signifikante Korrelation zwischen beiden Enzymen.

Die Gleichung der Regressionsgeraden lautet :

$$y = 0,12x + 12,2$$

6.3.6.0. Korrelation zwischen Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und β -Glucuronidase (Abb.17)

Die statistische Bearbeitung ergab bei 41 Wertepaaren keinen Anhalt für eine Korrelation zwischen diesen beiden Enzymen, da $r = 0,123$ entsprechend einem $p < 0,95$ war.

Als Gleichung der Regressionsgeraden wurde berechnet :

$$y = -24,4x + 151,6$$

6.3.7.0. Korrelation zwischen Glutamat-Pyruvat-Transaminase und β -Glucuronidase (Abb.18)

Glutamat-Pyruvat-Transaminase und Glutamat-Oxalacetat-Transaminase verhalten sich auch in diesem Falle gleichartig. Bei $r = -0,26$ und $p < 0,1$ kann eine Korrelation nicht erkannt werden.

Gleichung der Regressionsgeraden : $y = -12x + 37,6$

STATISTISCHE AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE : VENEN

KAPITEL	ENZYM	GRUPPEN	GRUNDGRÖSSEN			GRUPPEN- VERGLEICHE	t - TEST			F - TEST							
			$\bar{x}$	s^2	N		s	t	p	F	p						
4.2.1.0.	ß - GLUCURONIDASE	A	0,7	0,04	17	A/B	0,45	0,82	<0,5	10	<0,01						
		B	0,84	0,44	12	A/C	0,33	1,8	<0,1	5,1	<0,01						
						A/D	0,24	1,5	<0,2	3,9	<0,05						
						B/C	0,58	0,35	<0,8	2	>0,05						
		D	0,93	0,22	10	B/D	0,63	0,22	<0,9	2,3	>0,05						
	ß - ACETYL- GLUCOSAMINIDASE	C/D	0,46	0	-	1,3	>0,05										
								A	24,8	97	17	A/B	26	1,1	<0,3	16	<0,01
								B	35,5	1543	12	A/C	12,2	1,9	<0,1	2,5	>0,05
												A/D	9,9	1,9	<0,1	1,1	>0,05
												B/C	31	0,1	<0,95	6,5	<0,01
C	34,1	238	10	B/D	36	0	-	14,6	>0,05								
D	36,4	106	3	C/D	16,3	0,21	<0,9	2,3	>0,05								
4.2.2.0.	ß - GLUCURONIDASE	A	0,33	0,03	15	A/B	0,16	0,15	<0,9	1	>0,05						
						B	0,32	0,03	11	A/C	0,22	0,5	<0,7	2,7	<0,05		
										A/D	0,17	0,19	<0,9	0	-		
										B/C	0,2	2	<0,1	3,2	<0,05		
						D	0,31	0,03	3	B/D	0,16	0,09	<0,95	0	-		
	ß - ACETYL- GLUCOSAMINIDASE	C/D	0,27	1,1	<0,3	2,7	>0,05										
								A	2,66	1,6	15	A/B	1,2	0	-	1,3	>0,05
								B	2,64	1,23	11	A/C	1,3	3,1	<0,01	1,5	>0,05
												A/D	1,3	0,28	<0,8	1,5	>0,05
												B/C	1,3	2,73	<0,02	2	>0,05
								C	4,3	2,4	9	B/D	1,2	0,34	<0,8	2	>0,05
								D	2,9	2,45	3	C/D	1,55	1,4	<0,2	1	>0,05

6.4.0.0. Enzymaktivitäten der Venen in Abhängigkeit von den Arteriosklerosestadien der dazugehörigen Arterien

Da der Vene der Arteriosklerose vergleichbare Kriterien fehlen, wurden - zur Aufteilung der Venengesamtheit - die Arterien desselben Individuums zur Einteilung gemäß 2.1.1.0. herangezogen. Die Venen erhielten dieselben Gruppenbezeichnungen.

6.4.1.0. Enzymaktivitäten im Protein-Bezugssystem

6.4.1.1. β -Glucuronidase

Die statistischen Ergebnisse sind :

- a) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Gruppen A und B ,
- b) signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Gruppen A und C ,
- c) leicht signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Gruppen A und D .

Da dies die einzigen Ergebnisse sind, die die Signifikanzschranke von 5% erreicht haben, ist aus statistischer Sicht die Wahrscheinlichkeit gering, daß die Arteriosklerose der Arterien die Aktivitäten der β -Glucuronidase in der Venenwand beeinflussen könnte.

6.4.1.2. β -Acetylglucosaminidase

Die Berechnungen ergaben :

- a) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Gruppen A und B ,
- b) signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Gruppen B und C .

Die gleichen Aussagen wie bei der β -Glucuronidase lassen sich auch hier machen ,

6.4.2.0. Enzymaktivitäten im DNS-Bezugssystem

Wie aus der Tabelle (S.36) zu ersehen ist, wurden

hier im wesentlichen die gleichen Ergebnisse erzielt wie im Protein-Bezugssystem. Da die Aktivitäten der β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase der Venenwand in den beiden verschiedenen Bezugssystemen nicht korreliert waren, konnte ein statistisch gleichsinniges Verhalten bei den durchgeführten Gruppenvergleichen nicht erwartet werden.

STATISTISCHE AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE : VENEN

KAPITEL	ENZYM	GRUPPEN	GRUNDGRÖSSEN			GRUPPEN- VERGLEICHE	t - TEST			F - TEST	
			$\bar{x}$	s^2	N		s	t	p	F	p
4.2.3.0.	G O T	A	164	8091	16	A/B	91,6	0,17	<0,9	1,1	>0,05
						A/C	72,9	2,9	<0,01	12	<0,01
		B	158	8809	12	A/D	85	2,5	<0,025	43	<0,05
						B/C	72	2,6	<0,02	13	<0,01
		C	80,5	678	10	B/D	87	2,3	<0,05	46	<0,05
	G P T					C/D	24,3	3,3	<0,01	3,6	>0,05
		A	30,4	669	16	A/B	22,3	0,3	<0,8	2,5	>0,05
						A/C	21	1,24	<0,3	5	<0,01
		B	33,1	265	12	A/D	24,5	0,7	<0,5	6,4	>0,05
						B/C	14,3	2,65	<0,02	2	>0,05
	A P h	C	20,6	133	10	B/D	15,5	1,4	<0,2	2,5	>0,05
						C/D	11,3	0,15	<0,9	1,3	>0,05
		D	19,5	105	3	A/B	49	1,6	<0,2	26	<0,01
						A/C	41	1	<0,4	20	<0,01
		B	60,0	5400	12	A/D	20,7	1,7	<0,2	10	<0,01
	L D H					B/C	70	0,3	<0,8	1,3	>0,05
		C	49,9	4168	10	B/D	70	0	-	2,6	>0,05
						C/D	62	0,14	<0,9	2	>0,05
		D	56	2083	3	A/B	954	0,16	<0,9	1,34	>0,05
						A/C	800	0,3	<0,8	116	<0,01
		A	897	1111	16	A/D	970	0,8	<0,5	2,9	>0,05
						B/C	650	0,16	<0,9	86	<0,01
		B	840	760259	12	B/D	835	0,84	<0,5	2,14	>0,05
						C/D	268	2,13	<0,1	40	<0,01
		C	792	8819	10						
		D	391	355817	3						

6.4.3.0. Enzymaktivitäten des Cytoplasma

6.4.3.1. Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (Abb.19)

Die statistische Auswertung ergab :

- a) signifikante Abnahme des Mittelwertes von Gruppe A nach Gruppe C ,
- b) leicht signifikante Abnahme des Mittelwertes von Gruppe A nach Gruppe D ,
- c) leicht signifikante Abnahme des Mittelwertes von Gruppe B nach Gruppe C ,
- d) leicht signifikante Abnahme des Mittelwertes von Gruppe B nach Gruppe D ,
- e) signifikante Abnahme des Mittelwertes von Gruppe C nach Gruppe D ,
- f) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Gruppen A und C ,
- g) leicht signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Gruppen A und D ,
- h) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Gruppen B und C ,
- i) leicht signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Gruppen B und D .

Die Vielzahl dieser Aktivitätsunterschiede der GOT könnte auf eine Abhängigkeit von der Arteriosklerose der Arterien hinweisen. Jedoch ist zu beachten, daß dieses Enzym mit dem Alter eine starke Aktivitätsabnahme aufweist. Bei den Venen können die in Abhängigkeit vom Alter gemessenen Aktivitätsänderungen nicht von Aktivitätsänderungen getrennt werden, die durch andere Ursachen (z.B. Arteriosklerose der Arterien) bedingt sind, wie das bei den Arterien möglich war. Eine starke gegenseitige Beeinflussung dieser Faktoren könnte durchaus wahrscheinlich sein.

6.4.3.2. Glutamat-Pyruvat-Transaminase (Abb.20)

Statistische Auswertung :

- a) leicht signifikante Abnahme des Mittelwertes von Gruppe B nach Gruppe C ,
- b) signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Gruppen A und C .

Hier findet sich ebenfalls keine Abhängigkeit der Enzymaktivitäten vom Stadium der Arteriosklerose der Arterien. Zwar nehmen die Mittelwerte zur Gruppe D hin ab, jedoch wurden keine Signifikanzen festgestellt.

6.4.3.3. Alkalische Phosphatase (Abb.21)

Ergebnisse :

- a) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Gruppen A und B ,
- b) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Gruppen A und C ,
- c) signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Gruppen A und D .

Obwohl Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen den Arteriosklerosestadien der Arterien und den Enzymaktivitäten in der Venenwand fehlen, fällt doch beim Vergleich der Varianzen der große Unterschied zwischen Gruppe A und den übrigen Gruppen auf.

6.4.3.4. Lactat-Dehydrogenase (Abb.22)

Die statistische Auswertung ergab :

- a) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Gruppen A und C ,
- b) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Gruppen B und C ,
- c) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen der Gruppen C und D .

Obwohl der Mittelwert zur Gruppe D hin kontinuier-

lich abnimmt, konnte keine Signifikanz erreicht werden. Auch hier beeinflußt wohl die Arteriosklerose der Arterien mit großer Wahrscheinlichkeit nicht die Enzymaktivitäten in der Venenwand.

STATISTISCHE AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE : VERGLEICH ARTERIEN - VENEN

KAPITEL	ENZYM	GRUPPEN- VERGLEICHE	t - TEST			F - TEST	
			s	t	p	F	p
4.1.1.0. u. 4.2.1.0.	B - GLUCURONIDASE	A/A	0,2	3,4	<0,005	1,2	>0,05
		B/B	0,4	2,9	<0,01	44	<0,01
		C/C	0,45	0,59	<0,6	1,2	>0,05
		D/D	0,8	1,7	<0,2	5,3	>0,05
	B - ACETYL- GLUCOSAMINIDASE	A/A	8,3	2,53	<0,02	2	>0,05
		B/B	21	2,05	<0,05	47	<0,01
		C/C	17	0,29	<0,8	1,3	>0,05
		D/D	31	2,3	<0,1	12	>0,05
4.1.2.0. u. 4.2.2.0.	B - GLUCURONIDASE	A/A	0,12	4,3	<0,001	6	<0,01
		B/B	0,11	4,0	<0,001	8,3	<0,01
		C/C	0,2	3,1	<0,01	2,9	<0,05
		D/D	0,11	0,49	<0,7	5	>0,05
	B - ACETYL- GLUCOSAMINIDASE	A/A	0,9	3,85	<0,001	4,3	<0,01
		B/B	0,8	3,3	<0,005	3,3	<0,05
		C/C	1,5	2,93	<0,01	1,1	>0,05
		D/D	3,5	0,4	<0,8	5,1	>0,05

6.5.0.0. Vergleich der Enzymaktivitäten von Arterie und Vene

Die Korrelation von B-Glucuronidase und B-Acetylglucosaminidase in den beiden verschiedenen Bezugssystemen erreichte bei den Venen keine Signifikanz (siehe 6.3.3.0.). Die Gruppenvergleiche zwischen Arterien

und Venen wurden sowohl im Protein- als auch im DNS-Bezugssystem durchgeführt. Alle Grundgrößen, die in der obigen Tabelle fehlen, sind den statistischen Tabellen der Arterien oder Venen zu entnehmen.

6.5.1.0. Enzymaktivitäten im Protein-Bezugssystem

6.5.1.1. β -Glucuronidase (Abb.23)

Die statistische Auswertung ergab :

- a) signifikante Zunahme des Mittelwertes von der Arterie zur Vene bei Gruppe A ,
- b) signifikante Zunahme des Mittelwertes von der Arterie zur Vene bei Gruppe B ,
- c) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen von Arterie und Vene bei Gruppe B .

Die Aktivitäten der Venenwand liegen also in Gruppe A und B höher als in der Arterie. Unterschiede bei den Gruppen C/C und D/D konnten nicht festgestellt werden.

6.5.1.2. β -Acetylglucosaminidase (Abb.24)

Die statistische Auswertung ergab :

- a) leicht signifikante Zunahme des Mittelwertes von der Arterie zur Vene bei Gruppe A ,
- b) leicht signifikante Zunahme des Mittelwertes von der Arterie zur Vene bei Gruppe B ,
- c) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen von Arterie und Vene bei Gruppe B .

Hier können die gleichen Aussagen wie bei der β -Glucuronidase gemacht werden

6.5.2.0. Enzymaktivitäten im DNS-Bezugssystem

6.5.2.1. β -Glucuronidase (Abb.25)

Die statistische Auswertung ergab :

- a) hoch signifikante Zunahme des Mittelwertes von der Arterie zur Vene bei Gruppe A ,
- b) hoch signifikante Zunahme des Mittelwertes von der Arterie zur Vene bei Gruppe B ,
- c) signifikante Zunahme des Mittelwertes von der Arterie zur Vene bei Gruppe C ,
- d) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen von Arterie und Vene bei Gruppe A ,
- e) hoch signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen von Arterie und Vene bei Gruppe B ,
- f) leicht signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen von Arterie und Vene bei Gruppe C .

Die Unterschiede zwischen den Enzymaktivitäten von Arterien und Venen treten hier deutlicher hervor als im Protein-Bezugssystem. Eine weitere Differenz konnte in der Gruppe C/C festgestellt werden, während in der Gruppe D/D keine Signifikanzen erreicht wurden.

6.5.2.2. β -Acetylglucosaminidase (Abb.26)

Die statistische Auswertung ergab :

- a) hoch signifikante Zunahme des Mittelwertes von der Arterie zur Vene bei Gruppe A ,
- b) signifikante Zunahme des Mittelwertes von der Arterie zur Vene bei Gruppe B ,
- c) signifikante Zunahme des Mittelwertes von der Arterie zur Vene bei Gruppe C ,
- d) signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen von Arterie und Vene bei Gruppe A ,
- e) leicht signifikanter Unterschied zwischen den Varianzen von Arterie und Vene bei Gruppe B .

Hier lassen sich die gleichen Aussagen machen wie bei der β -Glucuronidase.

7.0.0.0. DISKUSSION

Genaue Aussagen über Aktivitätsänderungen der die sauren MPS depolymerisierenden Enzyme bei Arteriosklerose können gemacht werden, wenn altersabhängige Aktivitätsänderungen weitgehend ausgeschlossen worden sind. Durch physiologische Alterungsvorgänge bedingte Stoffwechselstörungen sind nur in nicht sklerotischen Arterienwänden zu finden (89). Diese unveränderten Gefäße wiesen gleichbleibende, mit wachsendem Alter nicht korrelierte Aktivitäten der β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase auf; zu den gleichen Ergebnissen kamen KRESSE, BUDDECKE und LUBOEINSKI (57,70).

Bekanntlich erfolgt beim alternden Menschen auch ohne sklerotische Veränderungen eine Zunahme der Metachromasie, d.h. eine vermehrte Ablagerung von sauren Mucopolysacchariden in der Gefäßwand (4,15, 17,55;59 u.a.). In gesteigertem Maße werden vor allem Chondroitinsulfat B und Heparitinsulfat (möglicherweise auch unbekannte neutrale Glycoproteide) eingebaut, die aber nach BUDDECKE und PLATT (21) von den in dieser Arbeit untersuchten Enzymen nicht gespalten werden. Deshalb steht eine verminderte Synthese der sauren MPS (8,41,44) und ein konstanter MPS-Abbau in höherem Alter nicht im Widerspruch zu vermehrt abgelagerten, sauren MPS.

Im Gegensatz zu alternden Arterien konnten HAUSS, JUNGE-HÜLSING, DYRBYE, KIRK, SANWALD und RITZ einen erhöhten Einbau von ^{35}S -Sulfat in die MPS von arteriosklerotischen Gefäßen nachweisen; gleichzeitig fand sich eine Verkürzung der biologischen Halbwertszeit (47). Diese Befunde sprechen für einen gesteigerten MPS-Stoffwechsel in sklerotisch umgebauten Gefäßwänden. Die Aktivitätsanstiege der depolymerisierenden Enzyme könnten mit diesen Ergebnissen im Zusammenhang stehen (4,8,21,47,60,70,83 u.a.). In den letzten Jahren konnten Befunde erhoben werden, die auf eine reaktive Aktivitätssteigerung der

Glycosaminoglycano-Hydrolasen durch vermehrte Ablagerung von sauren MPS in der Gefäßwand hinweisen. Elektronenoptische Befunde ergaben, daß Fibroblasten in Arteriosklerosebezirken gegenüber unveränderten Abschnitten vermehrt Vakuolen besitzen (90). COHN und Mitarbeiter (26,27) fanden bei Makrophagen, deren Nährmedium Hyaluronsäure und Heparin enthielt, eine erhöhte Vakuolenbildung und einen gleichzeitigen Aktivitätsanstieg der sauren Hydrolasen. Die in den arteriosklerotischen Anfangsstadien verstärkt abgelagerten Glycosaminoglycane könnten also eine Induktion von Vesikeln der Fibroblasten hervorrufen und die Aktivitätserhöhung von β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase zur Folge haben (90). Ebenso wie in Aorten (70) und Coronar- und Cerebralarterien (84) wurden in Homogenatüberständen von normalen und sklerotischen Femoralarterienabschnitten signifikante Aktivitätssteigerungen festgestellt. Unterschiede zu den an menschlichen Aorten (70) erhobenen Befunden ergaben sich lediglich beim Vergleich zwischen unveränderten Bezirken und den Stadien der Lipoidose. Diese Diskrepanz ist wahrscheinlich methodisch bedingt, da bei Femoralarterien eine Untersuchung der einzelnen Stadien am gleichen Gefäß wegen des geringen Ausgangsmaterials nicht möglich ist (der t-Test des paarweisen Vergleichs war nicht zulässig). Da der prozentuale Anteil arteriosklerotischer Veränderungen normale Gefäßwandabschnitte signifikant beeinflusst, können erst fortgeschrittene Arteriosklerosestadien bei Untersuchungen am gesamten Gefäß Unterschiede aufweisen. Möglicherweise ist auch die Einteilung (73) in unveränderte und Lipoidose-Stadien bei muskulären Arterien schwieriger, da die zunächst auftretenden Mediaveränderungen makroskopisch nicht so leicht zu erfassen sind wie Intimaveränderungen. So könnten Arterien, die dem Stadium A wegen ihrer normalen Intima zugeordnet wurden, schon leichte Veränderungen der Media aufweisen.

Die Enzymaktivitätsangaben sind entsprechend dem jeweils gewählten Bezugssystem unterschiedlich. Bei den Enzymen des cytoplasmatischen Raumes werden die Aktivitäten auf 1 ml Flüssigkeit (Serum oder Homogenatüberstand) bezogen. Um exakte Angaben über die Aktivitäten der Glycosaminoglycano-Hydrolasen in den Zellen machen zu können, wurde neben dem Proteingehalt auch der DNS-Gehalt als Bezugssystem zugrunde gelegt. KRESSE und BULDECKE (56,57) entschieden sich für den DNS-Gehalt als Bezugsgröße. PLATT und DORN (32,86) zeigten, daß im menschlichen hyalinen Knorpel Aktivitätsangaben im DNS- oder Proteinbezugssystem unterschiedlich sind. LUBOEINSKI (70) stellte auf Grund statistischer Korrelationen fest, daß in beiden Bezugssystemen gleiche Aktivitätsänderungen gefunden werden.

Die vorliegenden Untersuchungen ergaben bei den Femoralarterien ebenfalls hochsignifikante Korrelationen in zwei verschiedenen Bezugssystemen und infolgedessen keine Diskrepanzen zwischen den Ergebnissen der Gruppenvergleiche. Bemerkenswert war, daß trotz nicht signifikanter Korrelationen der Femoralvenen die Gruppenvergleiche in beiden Bezugssystemen gleichartig ausfielen. Diese Ergebnisse stützen die Annahme, daß DNS- und Proteingehalt als Bezugsgrößen in jedem Fall in der Gefäßwand gleichrangig zu bewerten sind.

Arbeiten über die MPS-depolymerisierenden Enzyme in der Venenwand wurden bisher nicht veröffentlicht. Die vorliegenden Untersuchungen sollten eine Ergänzung zu den an den elastischen und muskulären Arterien erhobenen Befunden darstellen. Von großem Interesse wäre eine Aktivitätsmessung in den Homogenatüberständen von sklerotischen Venenwänden gewesen, aber in keinem Fall wurden derartig veränderte Venen gefunden. Es lag deshalb nahe zu prüfen, ob eine Beeinflussung durch sklerotische Arterien möglich ist.

Veränderungen der Enzymaktivitäten mit zunehmendem Alter oder gesteigerten sklerotischen Umbauvorgängen der Arterien konnten nicht festgestellt werden, jedoch lagen die Enzymaktivitäten der Venen signifikant höher als die der Arterien des Arteriosklerosestadium C. Möglicherweise kommt diesen Befunden und der damit verbundenen - gegenüber den Arterien unterschiedlichen - Stoffwechsellage und Reaktionsbereitschaft der sauren MPS eine wesentliche Bedeutung bei der selten vorkommenden Phlebosklerose zu. Durch Syntheseuntersuchungen der MPS in der Venenwand könnten weitere Beweise für einen erhöhten Stoffwechsel erbracht werden.

Die Lysosomenwand von Leichenorganen zeigt eine postmortal schnell einsetzende, gesteigerte Durchlässigkeit für die Glycosaminoglycano-Hydrolasen, so daß keine Trennung der freien und gebundenen Enzymaktivitäten möglich ist. Allein die freie Enzymmenge katalysiert aber den Abbau des Substrates, sie ist bei den Arterien etwa 20-30mal kleiner als die gebundene, lysosomale Aktivität (42). Aussagen über Änderungen der Gesamtaktivität können also nur richtig sein, wenn sie durch zusätzliche Befunde über den Stoffwechsel der sauren MPS gestützt werden (z.B. die Bestimmung der Spaltprodukte). Weder in der Arterienwand noch in der Venenwand konnte in den Homogenatüberständen Hyaluronidaseaktivität nachgewiesen werden, jedoch fehlt dieses Enzym zumindest in der Aortenwand nicht, wie BUDDECKE und PLATT (21,83) durch Anreicherung zeigen konnten: Die Hyaluronidaseaktivität nahm parallel zur Arteriosklerose zu. Da für den katabolen MPS-Stoffwechsel die Hyaluronidase oder ein ihr ähnliches Enzym als "primer enzyme" notwendig ist (24,68,77,87), muß ihr Vorhandensein auch in den peripheren Arterien und Venen angenommen werden. Wie unter 1.C.O.C. beschrieben, sind für die Entste-

der Arteriosklerose wahrscheinlich die energieliefernden Enzymsysteme von großer Bedeutung. So konnte gezeigt werden, daß die Transaminasen der alternen, nicht sklerotischen Arterien unveränderte Aktivitäten aufweisen (72,96), während bei der Lactat-Dehydrogenase bis zum 60. Lebensjahr ein Anstieg, dann ein leichter Abfall der Aktivitäten zu verzeichnen war.

Untersuchungsergebnisse sklerotischer Arterienabschnitte weisen auf eine deutliche Schädigung des Stoffwechsels der Gefäßwandzellen hin: die Transaminasen sind bei Arteriosklerose deutlich erhöht (72, 94), die alkalische Phosphatase zeigt eine Aktivitätsminderung (98).

Erwähnenswerte Arbeiten (96) über cytoplasmatische Enzyme in der Venenwand liegen bisher nicht vor. In dieser Arbeit wurden durch Messungen im Homogenatüberstand Aktivitätsminderungen der Transaminasen und der Lactat-Dehydrogenase mit zunehmendem Alter festgestellt. Die Ergebnisse stimmen nicht mit denen der Arterien überein, jedoch kann die Frage nach der Entstehung dieser Diskrepanz nur zur Diskussion gestellt werden.

Für eine eventuelle Beeinflussung der Enzymaktivitäten in der Venenwand durch sklerotische Arterien über die Adventitia kann aufgrund der vorliegenden Ergebnisse kein Hinweis gefunden werden. Mit Ausnahme der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, deren Aktivitätsabfall sehr wahrscheinlich auf die starke Enzymverminderung im Alter zurückzuführen ist, zeigten die übrigen Enzyme keine statistisch erfaßbaren Veränderungen.

Die konstanten Aktivitäten der depolymerisierenden Enzyme der sauren MPS als auch die des Cytoplasma in der Venenwand könnten für eine unveränderte, gute Stoffwechsellaufe in der Jugend und im Alter sprechen.

8.0.0.0. SCHLUSSFOLGERUNGEN

Von wesentlicher Bedeutung für den Gefäßwandstoffwechsel der peripheren Arterien ist die Tatsache, daß nur die Adventitia durch vasa vasorum versorgt wird, während die inneren Schichten durch Diffusion aus dem Blutstrom ernährt werden müssen. Die Diffusionsstrecke wird physiologisch im Alter durch Fibrosierung der Wand verlängert und kann die Größenordnung der kritischen Schichtdicke mit ihrer labilen Stoffwechsellage erreichen, in der jede weitere Noxe (Hypertonie, Stoffwechselkrankheiten usw.) als Beginn eines circulus vitiosus zur Schädigung von Fibroblasten und Fibrozyten führen kann. Diese Zellen könnten - als Syntheseorte der Mucopolysaccharid-Protein-Komplexe - aufgrund ihres gestörten Stoffwechsels eine Änderung der MPS-Synthese bewirken. Die durch vermehrte Inkorporationsraten von radioaktiv markierten Substanzen nachgewiesene MPS-Synthesesteigerung könnte über einen feed-back-Mechanismus eine Aktivitätssteigerung der sauren Glycosaminoglycano-Hydrolasen herbeiführen (90). Mit dem Austritt dieser lysosomalen Enzyme in den Extrazellulärraum würde ein verstärkter Abbau der MPS-Protein-Komplexe und ein Nachlassen der Molekularsiebfunktionen der Gefäßwand beginnen, so daß jetzt auch größere Moleküle wie Proteine und Lipide in die Wand eindringen könnten. Infolge dieser pathologischen Permeabilitätssteigerung für große Moleküle - hervorgerufen durch ungeordneten Abbau der Mucopolysaccharide - würden die Lipide des Plasma mit sauren MPS Komplexe bilden und zu einem der Initialstadien der Arteriosklerose - der Lipoidose - führen.

Schon in ihrer Morphologie bieten die Venen wesentliche Unterschiede gegenüber den Arterien: Sie weisen wegen ihres sehr geringen Innendruckes vasa va-

sorum auf, die bis in die innerste Intima vordringen (69); sie bleiben auch im hohen Alter zart, da ihre Fibrosierung nicht fortschreitet und kritische Schichtdicken nicht erreicht. Für stoffwechselintakte Fibroblasten sprechen die Untersuchungen der energieliefernden, cytoplasmatischen Enzymsysteme, die ein physiologisches Verhalten mit wachsendem Alter zeigen und nicht durch sklerotische Arterien beeinflusst werden.

Ebenso weist auch das Verhalten der MPS-depolymerisierenden Enzyme nicht auf Schädigungen der Gefäßwandzellen hin. Möglicherweise könnten die von vornherein höheren, aber gleichbleibenden Enzymaktivitäten ein wichtiger Faktor für die selten auftretende Phlebosklerose sein.

9.0.0.0. ZUSAMMENFASSUNG

1. Wandabschnitte menschlicher A. und V. femorales (vom Abgang der A. profunda femoris bis zum Eintritt in den Adduktorenkanal) wurden nach makroskopischen Gesichtspunkten in normale und arteriosklerotisch veränderte Bezirke getrennt und gesammelt. In den Homogenatüberständen wurde die Bestimmung von β -Glucuronidase-, β -Acetylglucosaminidaseaktivität, Protein- und DNS-Gehalt, bei den Venen zusätzlich der Aktivitäten von GOT, GPT, LDH und alkalischer Phosphatase vorgenommen.
2. Hoch signifikante Korrelationen von Enzymaktivitäten im Protein- und DNS-Bezugssystem zeigen, daß Aktivitätsangaben des Arteriengewebes in beiden Bezugssystemen gleichrangig zu bewerten sind. Venen weisen diese Korrelationen nicht auf, jedoch ergeben die Gruppenvergleiche in beiden Bezugssystemen weitgehende Übereinstimmungen.
3. Altersabhängige, signifikante Änderungen der β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase konnten weder bei Arterien noch Venen festgestellt werden.
4. Die Arterien zeigen mit zunehmender Arteriosklerose signifikante Aktivitätssteigerungen der Glycosaminoglycano-Hydrolasen.
5. Durch sklerotische Arterien hervorgerufene Aktivitätsänderungen der β -Glucuronidase, β -Acetylglucosaminidase und der cytoplasmatischen Enzyme in den entsprechenden Venenwänden konnten nicht beobachtet werden.
6. Signifikante Aktivitätsverminderungen mit zunehmendem Alter ergaben sich bei der Bestimmung der GOT, GPT und LDH.
7. Die Bedeutung der sauren Glycosaminoglycano-Hydrolasen und der cytoplasmatischen Enzyme für die Entstehung der Gefäßsklerose wurde diskutiert.

10.0.0.0. LITERATURVERZEICHNIS

1. BENITZ, K.-F. :
Zur Histochemie der sogenannten experimentellen Arteriosklerose.
Naunyn-Schmiedebergs Arch.exp.Path.Pharmak., 223, 420 (1954)
2. BERNFIELD, P. :
in E.A.Balazs and R.W.Jeanloz : The Amino Sugars, vol. 2B, 213, New York-London, Academ.Press (1966)
3. BERNFIELD, P. and W.H.FISHMAN :
 β -Glucuronidase. I.Purification of calf spleen β -Glucuronidase.
J.biol.Chem., 202, 757 (1953)
4. BERTELSEN, S. :
The role of ground substance, collagen and elastic fibers in the genesis of atherosclerosis.
in Sandler and Bourne : Atherosclerosis and its origin. New York-London, Academ.Press (1963)
5. BESSEY, O.A.H. et al. :
J.biol.Chem., 164, 321 (1946)
6. BOLLET, A.J., J.F.GOODWIN and A.K.BROWN :
Metabolism of mucopolysaccharides in connective tissue. I.Studies of enzymes involved in glucuronide metabolism.
J.clin.Invest., 38, 451 (1959)
7. BOROOAH, J., D.H.LEABACK and P.G.WALKER :
Studies on glucosaminidase. 2.Substrates for N-acetyl- β -glucosaminidase.
Biochem.J., 78, 106 (1961)
8. BOSTRÖM, H. and L.RODEN :
in E.A.Balazs and R.W.Jeanloz : The Amino Sugars, vol. 2B, New York-London, Academ.Press (1966)

9. BRANDSTRUP, N., J.E.KIRK and C.BRUNI :
J.Gerontol., 12, 166 (1957)
10. BREDT, H. :
Morphologie und Pathogenese der Arteriosklerose.
In G.Schettler: Arteriosklerose. Stuttgart (1961)
11. BUCK, R.C. :
Electron microscopic observations on capillaries
of arteriosclerotic aorta.
Arch.Path., 67, 656 (1959)
12. BUDDECKE, E. :
Angiochemische Alterswandlungen des Aorten-
bindegewebes.
Verhandl.d.Dt.Ges.f.Kreislaufforsch., 24.Tagung,
S.143 (1958)
13. BUDDECKE, E. :
Darstellung und chemische Zusammensetzung von
Mucopolysacchariden der Aorta des Menschen.
Hoppe-Seylers Z.physiol.Chem., 318, 33, (1960)
14. BUDDECKE, E. :
Die Mucopolysaccharide in der Gefäßwand.
Dtsch.med.Wschr., 86, 1773 (1961)
15. BUDDECKE, E. :
Mucopolysaccharide in der Arterienwand.
Tagg.d.Ges.Phys.Chem., Berlin, Sept.1959
16. BUDDECKE, E. :
Untersuchungen zur Chemie der Arterienwand.
I. Quantitative Zusammensetzung des Gefäßbinde-
gewebes.
Hoppe-Seylers Z.physiol.Chem., 310, 171 (1958)
17. BUDDECKE, E. :
Untersuchungen zur Chemie der Arterienwand.
II. Arteriosklerotische Veränderungen am Aorten-
bindegewebe des Menschen.
Hoppe-Seylers Z.physiol.Chem., 310, 182 (1959)

18. BUDDECKE, E. :
Wechselwirkungen des Diffusionsfaktors Oligo-
N-methyl-morpholinium-propylenoxyd mit an-
ionischen Polysacchariden.
Hoppe-Seylers Z.physiol.Chem., 330, 84 (1962)
19. BUDDECKE, E. und R.DRZENIEK :
Stabilitätskonstanten der Calciumkomplexe
von sauren Mucopolysacchariden.
Hoppe-Seylers Z.physiol.Chem., 327, 49 (1962)
20. BUDDECKE, E. und O.HOEFELE :
Reinigung und Eigenschaften der β -Glucuronidase
aus der Aorta des Rindes.
Hoppe-Seylers Z.physiol.Chem., 347, 173 (1966)
21. BUDDECKE, E. und D.PLATT :
Nachweis, Reinigung und Eigenschaften der
Hyaluronidase aus der Aorta des Rindes.
Hoppe-Seylers Z.physiol.Chem., 343, 61 (1965)
22. BUDDECKE, E. und G.REICH :
Darstellung und Eigenschaften eines Kathepsins
aus Rinderarteriengewebe.
Hoppe-Seylers Z.physiol.Chem., 348, 1616 (1967)
23. BUDDECKE, E., G.REICH und U.STEIN :
Über die saure Carboxypeptidase in der Aorta
des Rindes.
Hoppe-Seylers Z.physiol.Chem., 347, 192 (1966)
24. BUDDECKE, E. und E.WERRIES :
Reinigung und Eigenschaften der β -Acetyl-
glucosaminidase aus der Aorta des Rindes.
Hoppe-Seylers Z.physiol.Chem., 340, 257 (1965)
25. CERIOTTI, G. :
A microchemical determination of desoxyribo-
nucleic acid.
J.biol.Chem., 198, 297 (1952)

26. COHN, Z.A. and E.PARKS :
The regulation of pinocytosis in mouse macrophages. II. Factor inducing vesicle formation.
J.Experim.Med., 125, 213 (1967)
27. COHN, Z.A. and E.PARKS :
The regulation of pinocytosis in mouse macrophages. IV. The immunological induction of pinocytic vesicles, secondary lysosomes and hydrolytic enzymes.
J.Experim.Med., 125, 1091 (1967)
28. DOCUMENTA GEIGY, WISSENSCHAFTLICHE TABELLEN
6.Auflage J.R.Geigy A.G.Basel, 1960
29. DOERFEL, K. :
Beurteilung von Analysenverfahren und -ergebnisse
2.Aufl. Springer-Verlag, Berlin 1965
30. DOHRMANN, R. :
Zur klinischen Bestimmung und Kinetik der β -Glucuronidase
Dtsch.Arch.klin.Med., 206, 322 (1960)
31. DORFMANN, A. :
Metabolism of acid mucopolysaccharides.
Biophys.J., Suppl.to vol. 4, 155 (1964)
32. DORN, M. :
Glycosaminoglycanohydrolasen im menschlichen Rippen- und Kniegelenksknorpel.
Inaugural-Dissertation, Gießen (1968)
33. DYRBYE, M. and J.E.KIRK :
The β -glucuronidase-activity of aortic and pulmonary tissue in individuals of various ages.
34. DYRBYE, M. and J.E.KIRK :
zit.in Sandler and Bourne: Atherosklerosis and its origin. New York-London, Academ.Press (1963)

35. FINDLAY, J. and G.A.LEVVY :
Purification of β -N-acetylglucosaminidase from
the pig epididymis.
Biochem.J., 77, 170 (1960)
36. FISHMAN, W.H. :
 β -Glucuronidase.
in Sumner and Myrbäck : The Enzymes, vol.4(1)
642, New York-London, Academ.Press (1950)
37. FONTAINE, R., P.MANDEL und E.KEMPF :
Strassbourg méd., 9, 605 (1960)
38. FONTAINE, R., P.MANDEL, U.PANTESCO, E.KEMPF :
Le métabolism de la paroi artérielle et varia-
tious an cours du vieillissement.
Strassbourg méd., 11, 605 (1960)
39. GIBIAN, H. :
Mucopolysaccharide und Mucopolysaccharidasen.
F.Deuticke-Verlag, Wien (1959)
40. GROSSFIELD, H., K.MEYER, G.GOODMAN, A.LINKER :
J.Biophys.Biochem. Cytol., 3, 391 (1957)
41. HAUSS, W.H., G.JUNGE-HÜLSING, H.J.HOLLÄNDER :
J.Atherosclerosis Res., 2, 50 (1962)
42. HELD, E., O.HOEFELE, G.REICH, U.STEIN, E.BUDDECKE :
Wirkungssynergismus Chondroitin-4-sulfat-Protein
abbauender Enzyme des Arterien Gewebes.
Z.klin.Chem.u.klin.Biochem., 4, 244 (1968)
43. HEVELKE, G. :
Die Angiochemie der Gefäße und ihre physiolo-
gischen Alterswandlungen.
Verh.Dtsch.Ges.Kreislaufforsch., 24, 131
44. HILZ, H., C.ERICH, D.GLAUBITT :
Veränderung von Zelldichte und Polysaccharid-
stoffwechsel im alternden Bindegewebe.
klini.Wschr., 41, 332 (1963)

45. HIERONYMI, G. :
Über den altersbedingten Formwandel elastischer
und muskulöser Arterien.
Sitz.Ber.d.Heidelberger Akad.d.Wiss., math.-
nat.Kl., Heidelberg, Springer-Verlag (1956)
46. HOEFELE, O. :
Die β -Glucuronidase der Aorta des Rindes - ihre
Reinigung, Eigenschaften und physiologische Funktion.
Inaugural-Dissertation, Tübingen (1967)
47. JUNGE-HÜLSING, G. :
Untersuchungen zur Pathophysiologie des Binde-
gewebes.
Bd.24, Dr.A.Hüthig-Verlag, Heidelberg (1965)
48. KARMEN, A. et al. :
J.clin.Invest., 34, 126 (1955)
49. KATSURA, N. and E.A.DAVIDSON :
Metabolism of connective tissue polysaccharides
in vivo. IV. The sulphate group.
Biochim.Biophys.Acta, 121, 135 (1966)
50. KECK, K. :
An ultramicro technique for the determination
of desoxypentose nucleic acid.
Arch.Biochem.Biophys., 63, 446 (1956)
51. KIRK, J.E. :
Circulation, 18, 487 (1958)
J.Geront., 17, 154 (1962)
52. KIRK, J.E., G.P.EFFERSON and S.P.CHIANG :
The rate of respiration and glycolysis by
human and dog aortic tissue.
J.Geront., 9, 10 (1954)
53. KLEINE, T.O. und H.HILZ :
Charakterisierung der Protein-Polysaccharide
aus Kälberrippenknorpel und ihre in-vivo-
Markierung mit $^{35}\text{SO}_4^{--}$.
Hoppe-Seylers Z.physiol.Chem., 349, 1027 (1968)

54. KLEINE, T.O., H.-J.KIRSIG und H.HILZ :
Über die Koordinierung von Protein-, Polysaccharid- und Sulfatester-Synthese im Rippenknorpel von Kälbern.
Hoppe-Seylers Z.physiol.Chem., 349, 1037 (1968)
55. KLYNSTRA, F.B., C.J.F.BÖTTCHER, J.A.VAN MELSEN and E.J.VAN DER LAAN :
Districition and composition of acid mucopolysaccharides in normal and atherosclerotic human aortas.
J.Atheroscler.Res., 7, 301 (1967)
56. KRESSE, H. und E.BUDDECKE :
Aktivitätsmessungen von Glycosaminoglycano-Hydro-lasen des Arterien-gewebes im Alter und bei Arteriosklerose.
Hoppe-Seylers Z.physiol.Chem., 348, 1235 (1967)
57. KRESSE, H. und E.BUDDECKE :
Veränderungen in der Aktivität Chondroitin-sulfat-Protein abbauender Enzyme (Glycosamino-glycanohydrolasen und Peptidhydrolasen) des Arte-riengewebes im Alter und bei Arteriosklerose.
Z.klin.Chem.u.klin.Biochem., 6, 251 (1968)
58. KRISCH, K. :
Lysosomen.
Dtsch.med.Wschr., 91, 1274 (1966)
59. KUMAR, V., G.S.BERENSON, A.RUIZ, E.R.DALFERES jr. and J.P.STRONG :
Acid mucopolysaccharides of human aorta.
I. Variations with maturation.
J.Atheroscler.Res., 7, 573 (1967)
60. KUMAR, V., G.S.BERENSON, A.RUIZ, E.R.DALFERES jr. and J.P.STRONG :
Acid mucopolysaccharides of human aorta.
II. Variations with atherosclerotic involvement.
J.Atheroscler.Res., 7, 583 (1967)

61. LAURSEN, T.J.S. and J.E.KIRK :
J.Gerontol., 10, 26 (1955)
62. LEHNINGER, A.L. :
zit.in "The arterial wall" edit. L.Lansing,
Williams and Wilkins Corp., Baltimore (1959)
63. LEVY, G.A. and C.A.MARSH :
Preparation and Properties of β -glucuronidase.
Adv.Carbohyd.Chem., 14, 381 (1959)
64. LINDER, A. :
Statistische Methoden für Naturwissenschaftler,
Mediziner und Ingenieure.
4.Aufl. Birkhäuser-Verlag, Basel und Stuttgart 1
65. LINDNER, J. :
Die Alters- und Wachstumsveränderungen der Arter
in Schettler : Arteriosklerose, Stuttgart (1961)
66. LINDNER, J. :
Histochemie der Arteriosklerose.
in Schettler : Arteriosklerose. Stuttgart 1961
67. LINDNER, J. :
Histochemische und biochemische Untersuchungen
an der Grundsubstanz.
Res.Sympos.Kamp-Lintfort, Staufen-Verlag 1960
68. LINKER, A., K.MEYER and B.WEISSMANN :
Enzymatic formation of monosaccharides from
hyaluronate.
Biochem.J., 213, 237 (1954)
69. LINZBACH, A.J. :
I. Die allgemeine Pathogenese der Gefäßkrank-
heiten.
in Ratschow, M.: Angiologie. Georg Thieme-Verlag
(1959)
70. LUBOEWSKI, H.-P. :
Glycosaminoglycano-Hydrolasen in normalen und a
teriosklerotisch veränderten menschlichen Aorte
Inaugural-Dissertation, Gießen (1969)

71. KALEN, K. und M. JATKOVICI :
Metabolism of arterial tissue with special
reference to esterase and lipase.
Proc.Soc.Exper.Biol.Med., 118, 258 (1965)
72. MANDEL, F. et E. KEMPF :
Aktivités enzymatiques des artères de Bovidés
jeunes et âgés.
C.R.Soc.Biol.(Paris), 154, 791 (1960)
73. MCGILL, H.C. jr., J.C. GEER and J.P. STRONG :
Natural history of human atherosclerosis.
in Sandler and Bourne: Atherosclerosis and its
origin. New York-London, Academ.Press (1963)
74. MEYER, K. :
zit.in Schallock, G.: Die degenerativen Gefäß-
wand-umbildungen unter besonderer Berücksichtigung
der Bedeutung der Grundsubstanz.
in Ratschow, M.: Angiologie. Stuttgart 1959
75. MEYER, K. :
Struktur und Biologie der Polysaccharidsulfate
im Bindegewebe.
in W.H. Hauss und H. Losse: Struktur und Stoff-
wechsel des Bindegewebes, S.12, Stuttgart 1960
76. MEYER, K., S. DAVIDSON, A. LIKKER, P. HOFFMANN :
The acid mucopolysaccharides of connective tissue.
Biochim.Biophys.Acta, 21, 506 (1956)
77. MEYER, K., P. HOFFMANN and A. LIKKER :
hyaluronidases.
in Boyer, Lardy, Myrbäck: The Enzymes, vol.4,
447, New York-London, Academ.Press (1960)
78. MICH, R.A. :
Matrix properties of the aging arterial wall.
Monographs in the surgical science, vol.2, No.4

79. MUSA, B.U., R.P.DOE and U.S.SEAL :
Purification and properties of human liver
 β -glucuronidase.
J.biol.Chem., 240, 2811 (1965)
80. NAKATANI, M., F.SASAKI, T.MIYASAKI, M.NAKAMURA :
Synthesis of phospholipids in arterial walls.
J.Atheroscler.Res., 7, 749 (1967)
81. PARKER, F., J.W.ORMSBY, N.F.PETERSON, G.F.ODLAND
and R.H.WILLIAMS :
In-vitro-studies of phospholipid synthesis in
experimental atherosclerosis.
Circulation Res., 19, 700 (1966)
82. PETTENGILL, O.S. and W.H.FISHMAN :
The preparation and purification of β -glucuro-
nidase from mouse liver, kidney and urine.
J.biol.Chem., 237, 24 (1962)
83. PLATT, D. :
Hyaluronidase- , β -Glucuronidase- und β -Acetyl-
glucosaminidase-Aktivität in normalen und arterio-
sklerotisch veränderten menschlichen Aorten.
Klin.Wschr., 45, 92 (1967)
84. PLATT, D. :
Hyaluronidase- , β -Glucuronidase- und β -Acetyl-
glucosaminidase-Aktivität in normalen und arterio-
sklerotisch veränderten Coronar- und Cerebral-
arterien des Menschen.
Unveröffentlichte Ergebnisse
85. PLATT, D., G.BENEKE und E.BUDECKE :
Untersuchungen zur Vergleichbarkeit chemischer
und histochemischer Befunde von arteriosklero-
tisch veränderten menschlichen Aorten.
Klin.Wschr., 45, 542 (1967)
86. PLATT, D. und M.DORN :
Glycosaminoglycano-Hydrolasen im menschlichen
Rippen- und Kniegelenksknorpel.
Hoppe-Seylers Z.physiol.Chem., 348, 1241 (1967)

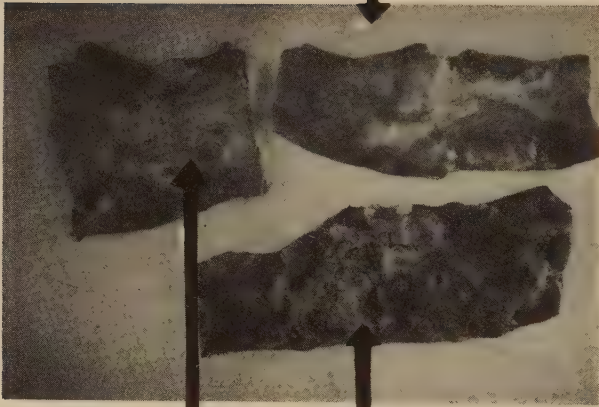
87. PLATT, D. und R.HARTMANN :
Hyaluronidase, β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase in epithelialen und mesenchymalen menschlichen Geweben.
Klin.Wschr., 45, 998 (1967)
88. PLATT, D. und D.PERNICE :
Untersuchungen zum katabolen Mucopolysaccharidstoffwechsel peripherer Gefäße in Abhängigkeit von Alter und Arteriosklerose.
Z.Gerontol., 3, 150 (1969)
89. PLATT, D. und H.-P.IUBOEINSKI :
Der katabole Mucopolysaccharidstoffwechsel der menschlichen Aortenwand in Abhängigkeit vom Alter.
Z.Gerontol., 2, 17 (1969)
90. PLATT, D. und B.SCHNORR :
Biochemische und elektronenmikroskopische Untersuchungen an normalen und arteriosklerotisch veränderten menschlichen Aorten.
Klin.Wschr., 47, 991 (1969)
91. PUGH, D., D.H.LEABACK and P.G.WALKER :
Studies on glucosaminidase. N-acetyl- β -glucosaminidase in rat kidney.
Biochem.J., 65, 464 (1957)
92. REISSIG, J.L., J.L.STROMINGER and L.F.LELOIR :
A modified colorimetric method for the estimation of N-acetylaminosugars.
J.biol.Chem., 217, 959 (1961)
93. RITZ, E. :
Der Pentosezyklus im Arterien Gewebe.
J.Atheroscler.Res., 8, 445 (1968)
94. RYU, S. :
Enzymological studies on rabbit arterial tissue in experimental arteriosclerosis, glutamic oxalacetic transaminase activity of rabbit aorta.
Jap.Circulat.J., 23, 1047 (1959)

95. SACHS, L. :
Statistische Auswertungsmethoden.
Springer-Verlag, 1969
96. SANWALD, R. und J.E.KIRK :
Transaminasen-Aktivität in normalem und arterio-
sklerotisch verändertem Arterien- und Venen-
gewebe des Menschen.
Klin.Wschr., 171, 940 (1965)
97. SANWALD, R. und E.RITZ :
Untersuchungen über Einbauraten von radioaktiv
markiertem Sulfat in die Mucopolysaccharide der
menschlichen Gefäßwand.
Vorgetragen auf der 74.Tagung der Dtsch.Gesellsch.
f.Innere Med., Wiesbaden 1968
98. SCHALLOCK, G. :
Die degenerativen Gefäßwandumbildungen unter be-
sonderer Berücksichtigung der Bedeutung der
Grundsubstanz.
in M.Ratschow: Angiologie. Stuttgart 1959
99. SCHETTLER, G. :
Arteriosklerose - Ätiologie, Pathologie, Klinik
und Therapie.
Georg Thieme-Verlag, Stuttgart 1961
100. SCHMIDT, W. :
Anlage und statistische Auswertung von Unter-
suchungen.
Verlag M.und H.Schaper, Hannover 1961
101. STAUBESAND, J. :
Funktionelle Morphologie der Arterien, Venen
und arterio-venösen Anastomosen.
in M.Ratschow: Angiologie. Stuttgart 1959
102. SZABO, J.K. und G.CSEH :
Über die Wechselwirkung zwischen dem Elastase-
komplex und der Lipoproteidlipase der Blutgefäße.
Naturwiss., 52, 260 (1958)

103. TALALLAY, P., W.H.FISHMAN and CH.HUGGINS :
Chromogenic substrates. II. Phenolphthalein
glucuronic acid as substrate for the assay of
glucuronidase activity.
J.biol.Chem., 166, 757 (1946)
104. WEICHSELBAUM, T.E. :
Amer.J.clin.Path., 10, 49 (1946)
105. WERRIES, E. :
Darstellung und Eigenschaften von β -N-acetyl-
D-hexosaminidase.
Inaugural-Dissertation, Tübingen 1965
106. WOOLLEN, J.W., R.HEYWORTH and P.G.WALKER :
Studies on glucosaminidase. 3. Testicular N-acetyl-
 β -glucosaminidase and N-acetyl- β -galactosaminidase.
Biochem.J., 78, 111 (1961)
107. WRÓBLEWSKI, F. und J.S.LADUE :
Proc.Soc.exp.Biol.Med., 90, 210 (1955)
108. WRÓBLEWSKI, F. und J.S.LADUE :
Proc.Soc.exp.Biol.Med., 91, 569 (1956)

ABBILDUNGEN

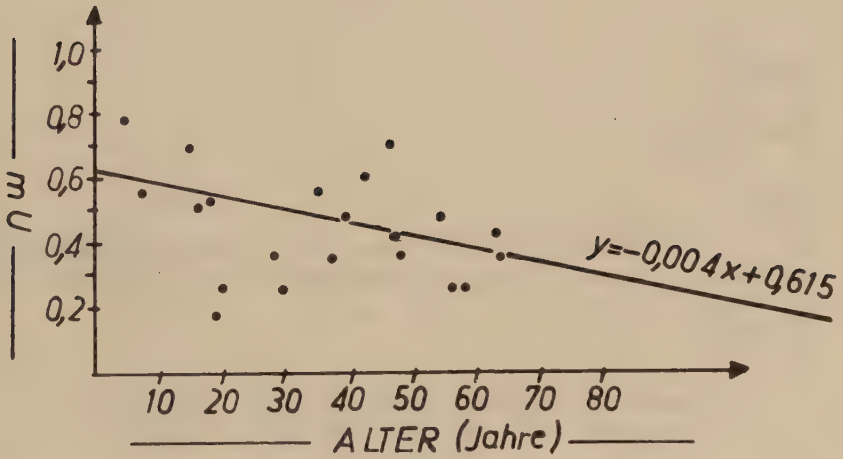
Stadium B



Stadium C

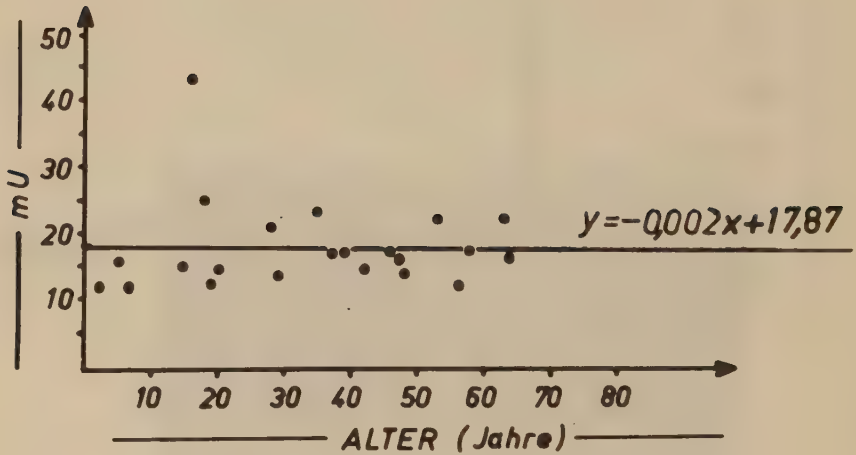
Stadium D

Abbildung 1



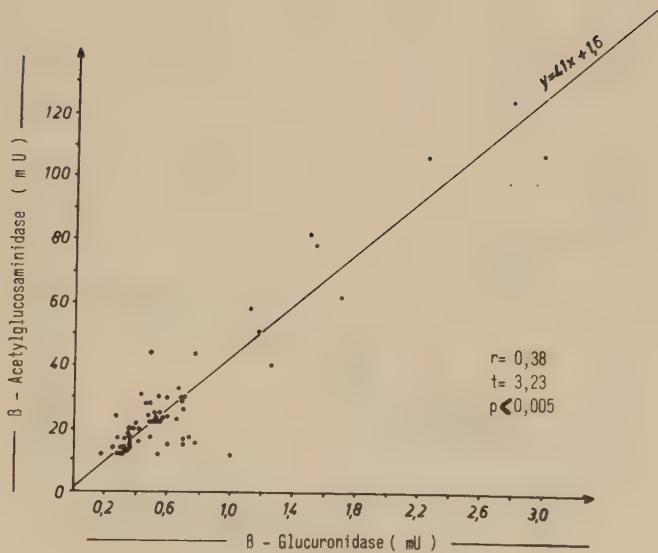
β -Glucuronidase-Aktivität unveränderter
Femoralarterienabschnitte in Abhängigkeit
vom Alter

Abbildung 2



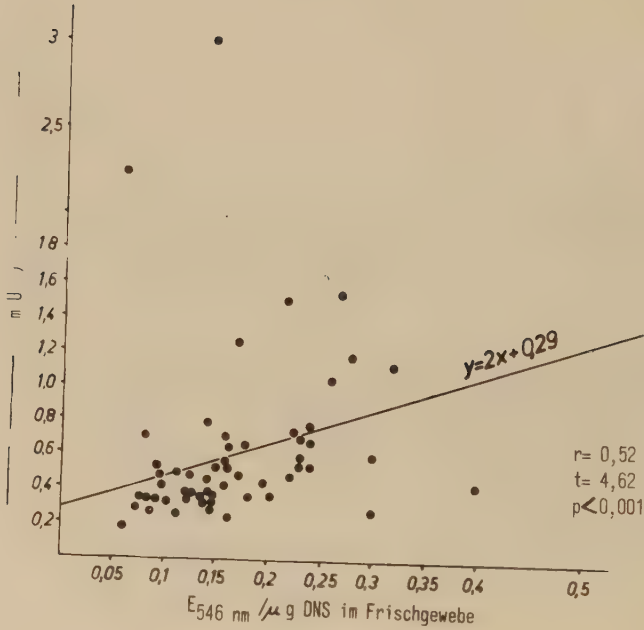
B-Acetylglucosaminidase-Aktivität in unver-
änderten Femoralarterienabschnitten in Abhängig-
keit vom Alter

Abbildung 3



Korrelation zwischen β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase menschlicher Femoralarterienhomogenate im Protein-Bezugssystem

Abbildung 4

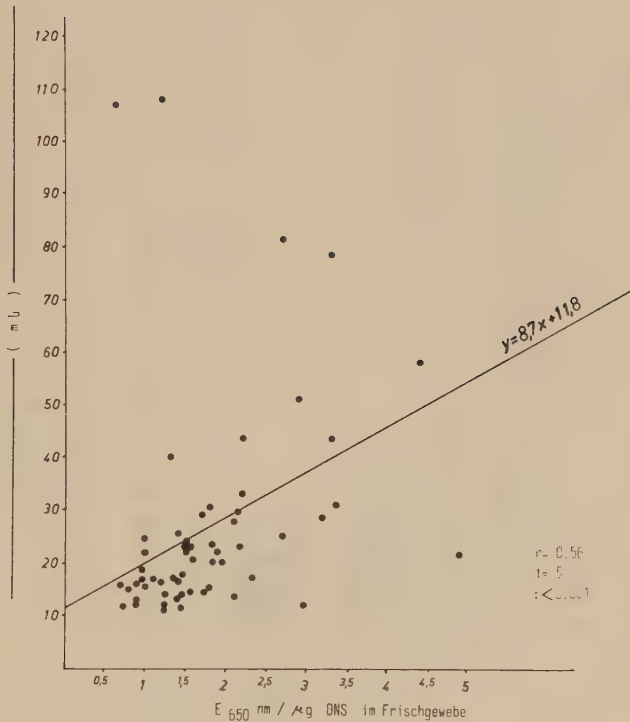


x β -Glucuronidase: Korrelation zwischen Enzym-
aktivitätsangaben in zwei verschiedenen Bezugs-
systemen

Abszisse: DNS-Gehalt als Bezugsgröße

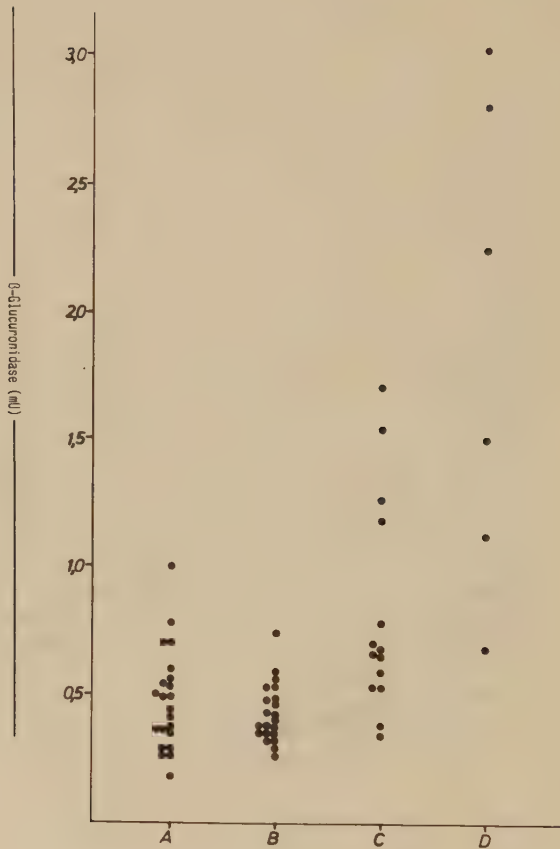
Ordinate: Proteingehalt als Bezugsgröße

Abbildung 5



β-Acetylglucosaminidase: Korrelation zwischen
 Enzymaktivitätsangaben in zwei verschiedenen
 Bezugssystemen
 Abszisse: DNS-Gehalt als Bezugsgröße
 Ordinate: Protein-Gehalt als Bezugsgröße

Abbildung 6



B-Glucuronidase: Enzymaktivitäten der Arterien
in Abhängigkeit von arteriosklerotischen Veränderungen

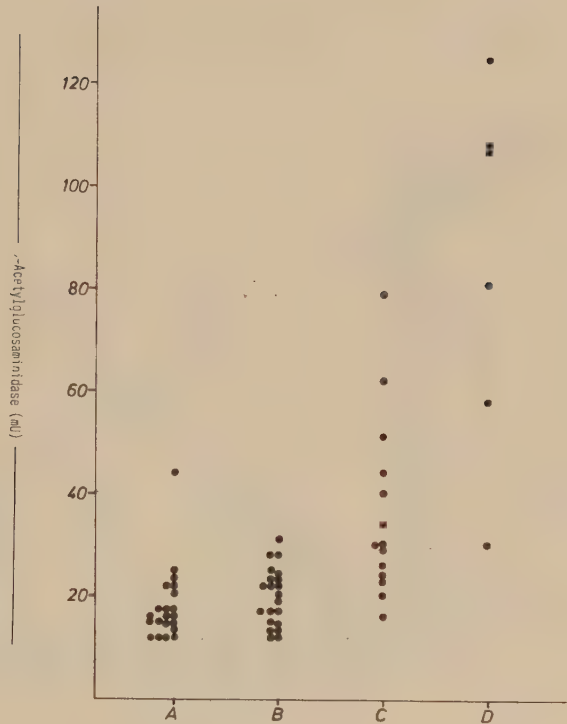
A: normale Bezirke

C: Atherome, MPS-Plaques

B: Lipoidose-Herde

D: Ulzerationen, Kalkeinlagerungen

Abbildung 7



β -Acetylglucosaminidase: Enzymaktivitäten der Arterien in Abhängigkeit von arteriosklerotischen Veränderungen

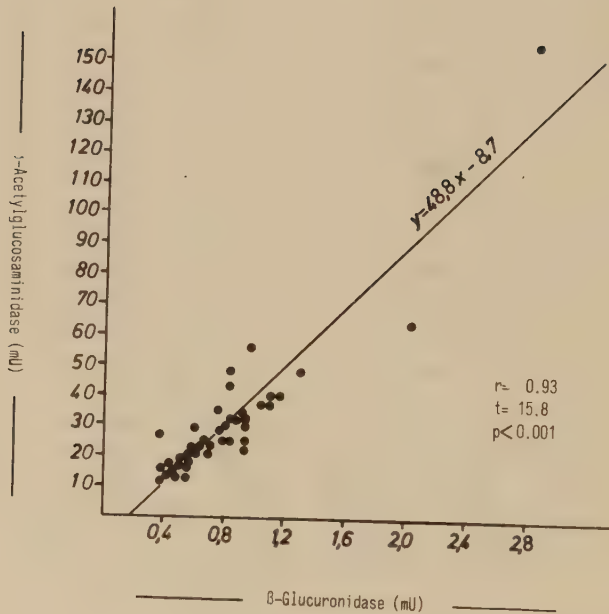
A: normale Bezirke

C: Atherome, MPS-Plaques

B: Lipoidose-Herde

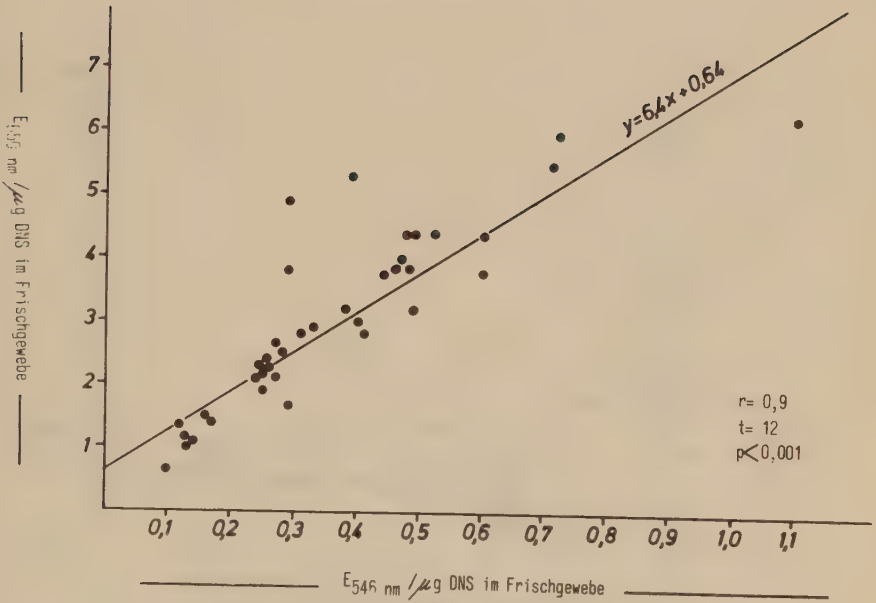
D: Ulzerationen, Kalk-einlagerungen

Abbildung 8



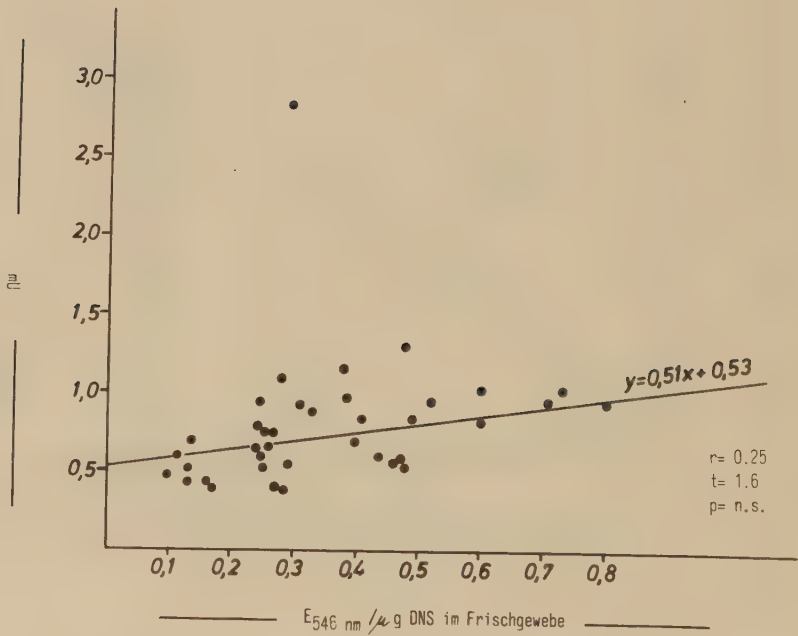
× Korrelation zwischen β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase menschlicher Femoralvenenhomogenate im Protein-Bezugssystem

Abbildung 9



Korrelation zwischen β -Glucuronidase und β -Acetylglucosaminidase menschlicher Femoralvenenhomogenate im DNS-Bezugssystem

Abbildung 10

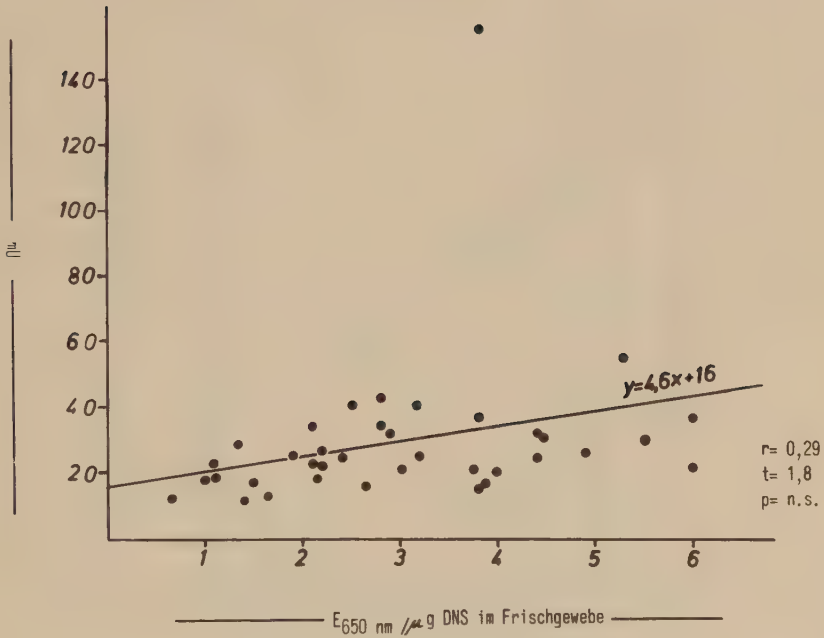


β-Glucuronidase: Korrelation zwischen Enzymaktivitätsangaben der Venen in zwei verschiedenen Bezugssystemen

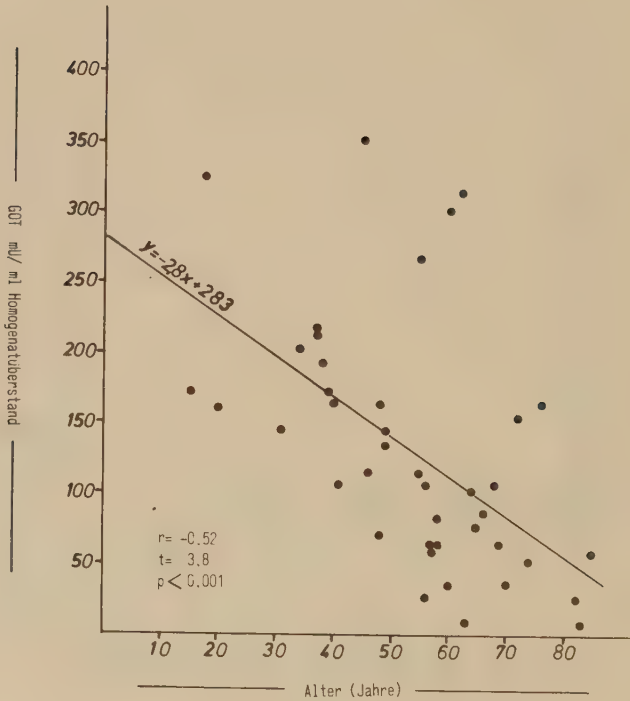
Abszisse: DNS-Gehalt als Bezugsgröße

Ordinate: Protein-Gehalt als Bezugsgröße

Abbildung 11

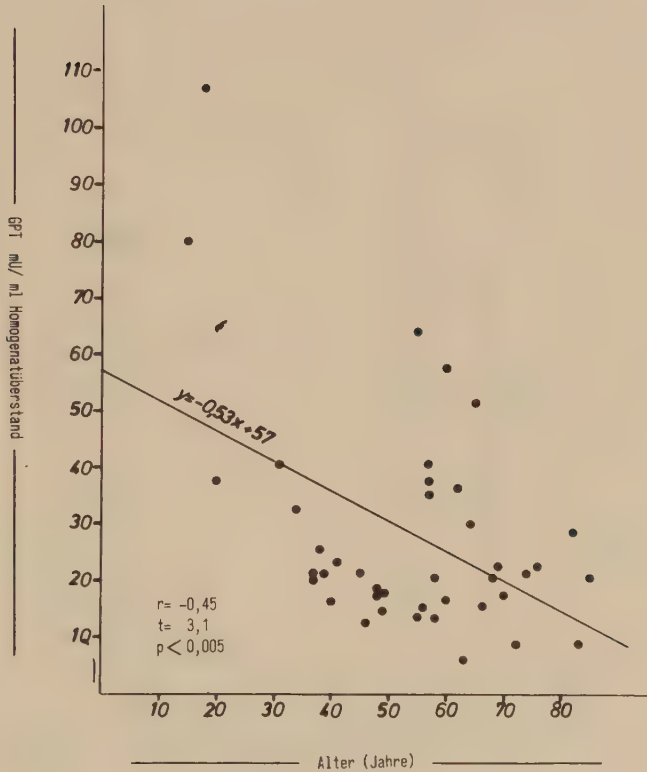


- * β -Acetylglucosaminidase: Korrelation zwischen Enzymaktivitätsangaben der Venen in zwei verschiedenen Bezugssystemen
 Abszisse: DNS-Gehalt als Bezugsgröße
 Ordinate: Protein-Gehalt als Bezugsgröße



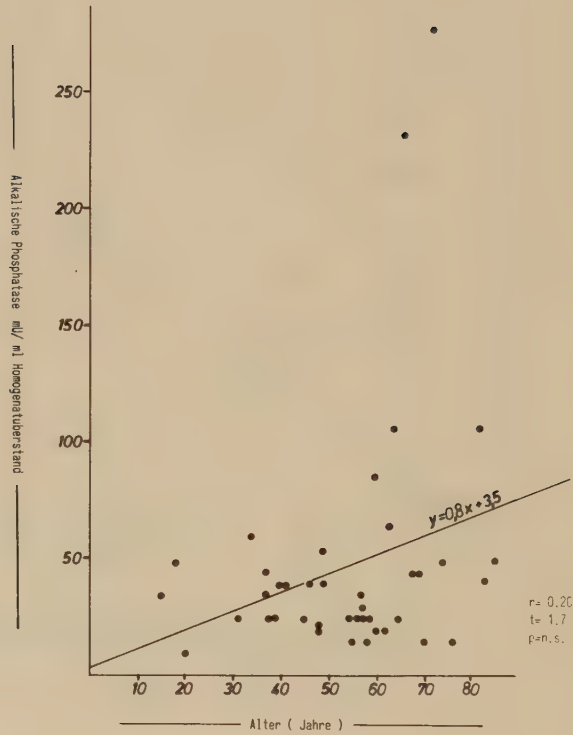
Glutamat-Oxalacetat-Transaminase: Enzymaktivitäten der Femoralvenen in Abhängigkeit vom Alter

Abbildung 13



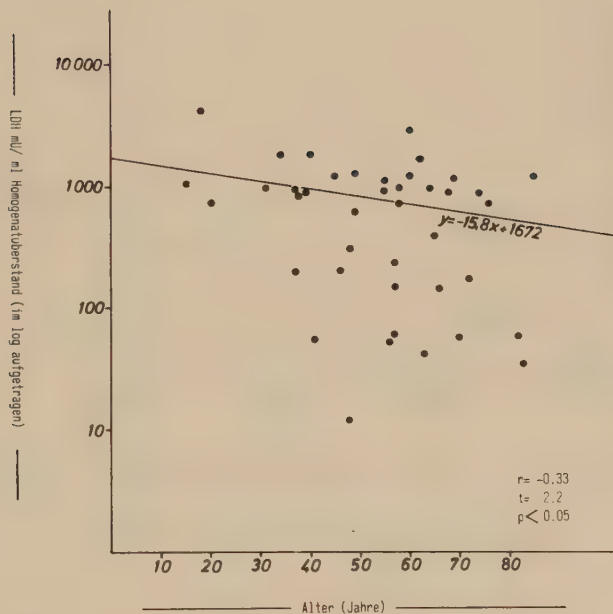
Glutamat-Pyruvat-Transaminase: Enzymaktivitäten
der Femoralvenen in Abhängigkeit vom Alter

Abbildung 14

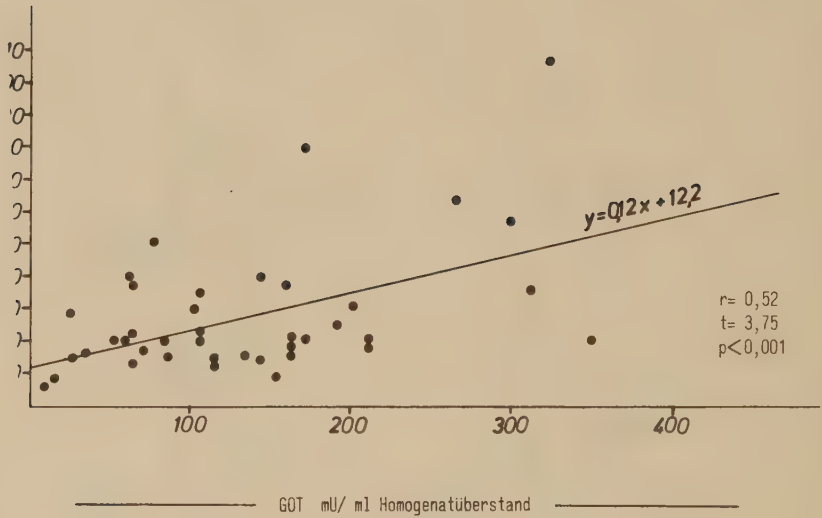


∞ Alkalische Phosphatase: Enzymaktivitäten
der Femoralvenen in Abhängigkeit vom Alter

Abbildung 15

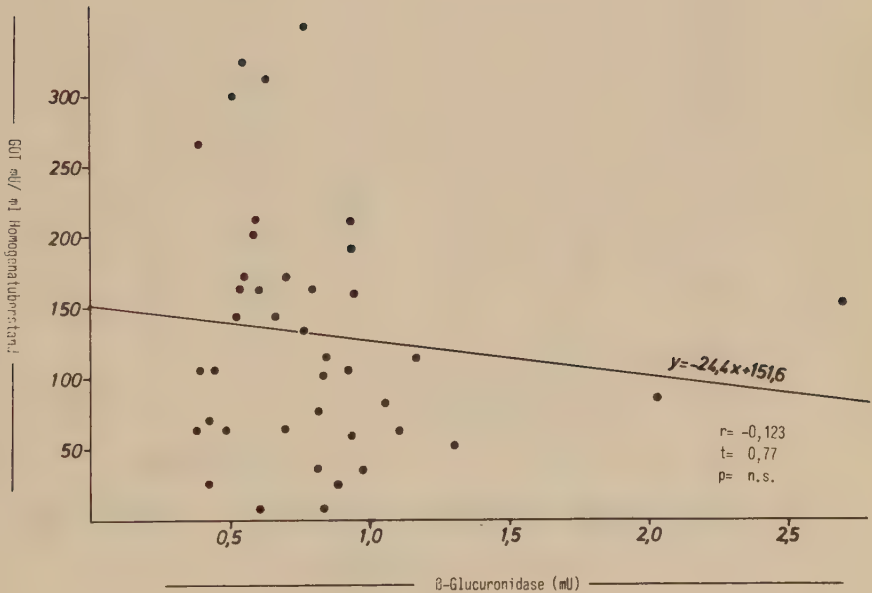


° Lactat-Dehydrogenase: Enzymaktivitäten der Femoralvenen in Abhängigkeit vom Alter



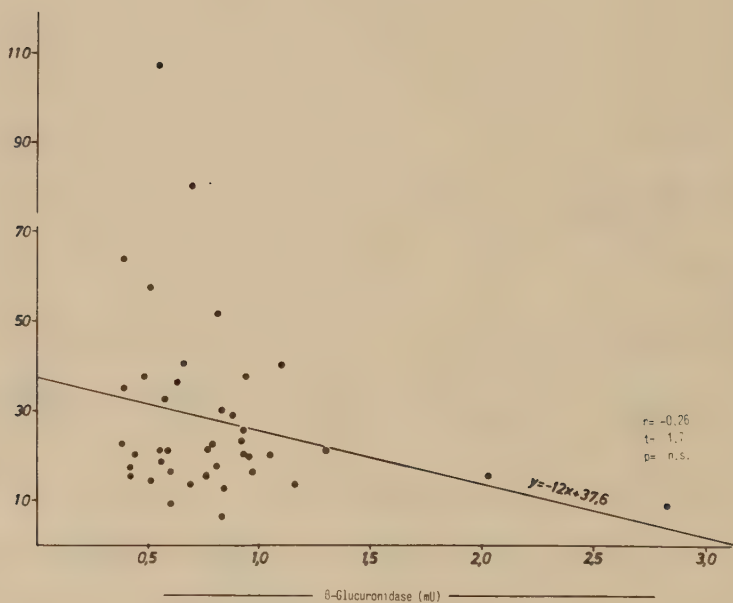
Korrelation zwischen Glutamat-Oxalacetat-Trans-aminase und Glutamat-Pyruvat-Transaminase menschlicher Femoralvenenhomogenate

Abbildung 17

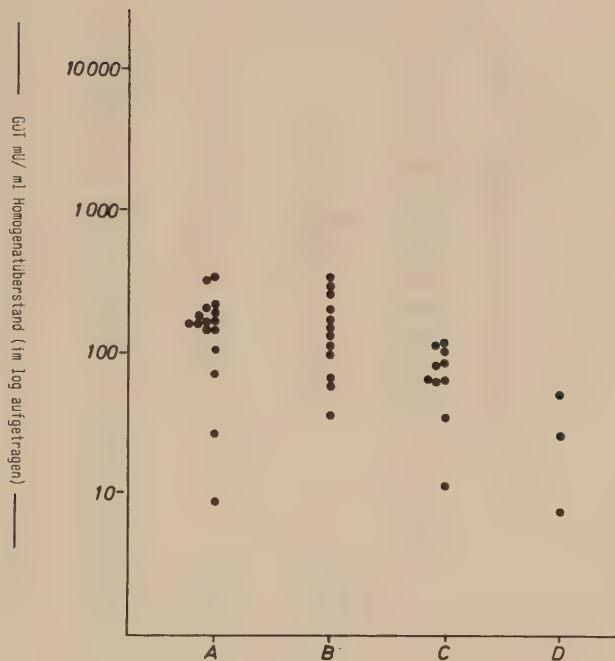


Korrelation zwischen Glutamat-Oxalacetat-Transaminase und β -Glucuronidase menschlicher Femoralvenenhomogenate

Abbildung 18

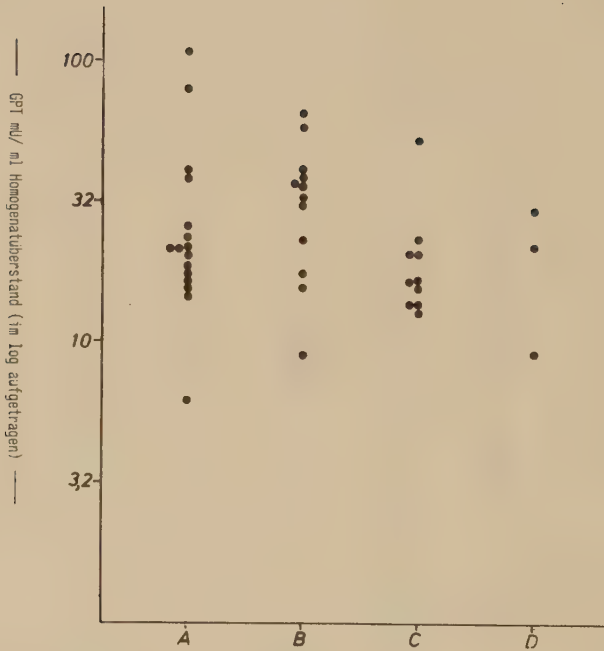


1 Korrelation zwischen Glutamat-Pyruvat-Transaminase und β -Glucuronidase menschlicher Femoralvenenhomogenate



Glutamat-Oxalacetat-Transaminase: Enzymaktivitäten der Femoralvenen in Abhängigkeit vom Zustand der entsprechenden Arterien

A:	Femoralarterie zeigte unveränderte Intima
B:	" " Lipoidose-Herde
C:	" " Atherome, MPS-Plaques
D:	" Ulzerationen, Kalk-einlagerungen



Glutamat-Pyruvat-Transaminase: Enzymaktivitäten der Femoralvenen in Abhängigkeit vom Zustand der entsprechenden Arterien

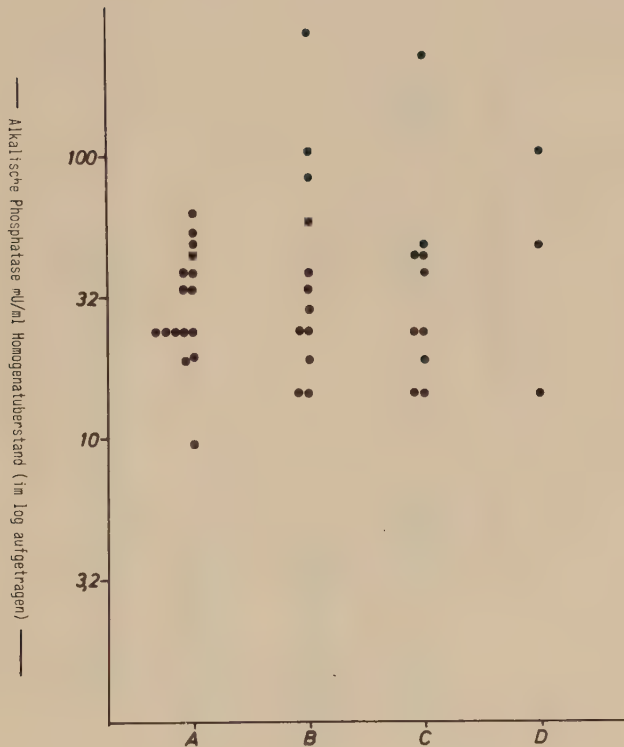
A: Femoralarterie zeigte unveränderte Intima

3: " " Hippocose-Herde

C: " " Atherome, MPS-Plaques

D:	"	"	Ulzerationen, Kalk- einlagerungen
----	---	---	--------------------------------------

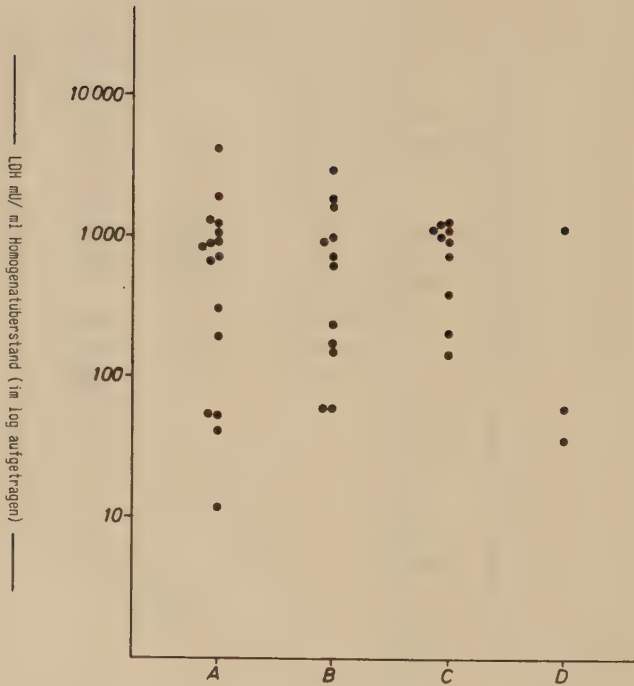
Abbildung 21



Alkalische Phosphatase: Enzymaktivitäten
 der Femoralvenen in Abhängigkeit vom Zustand
 der entsprechenden Arterien

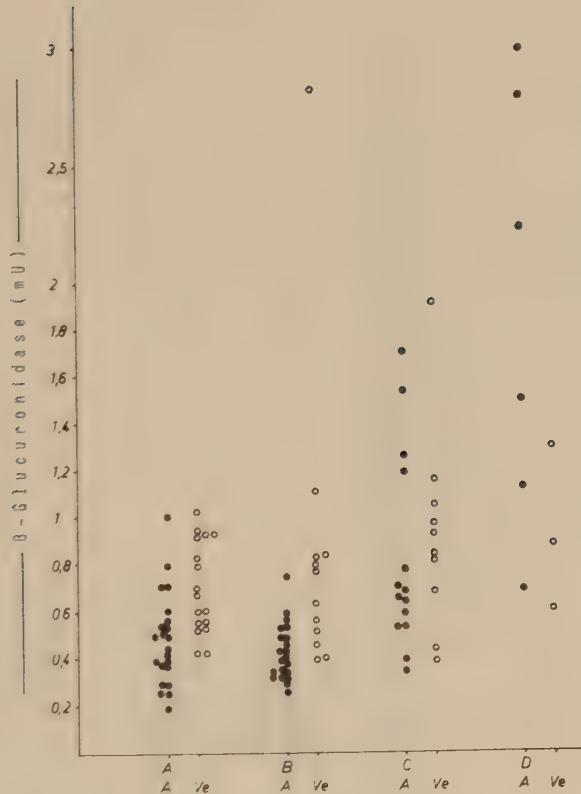
A: Femoralarterie zeigte unveränderte Intima
 B: " " Lipoidose-Herde
 C: " " Atherome, MPS-Plaques
 D: " " Ulzerationen, Kalk-
 einlagerungen

Abbildung 22



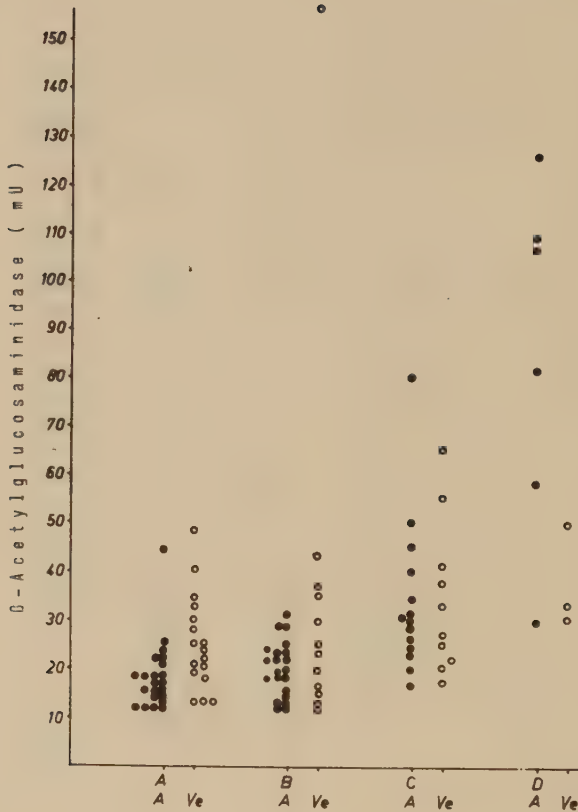
Lactat-Dehydrogenase: Enzymaktivitäten der Femoralvenen in Abhängigkeit vom Zustand der entsprechenden Arterien

- A: Femoralarterie zeigte unveränderte Intima
 B: " " Lipoidose-Herde
 C: " " Atherome, MPS-Plaques
 D: " " Ulzerationen, Kalk-einlagerungen

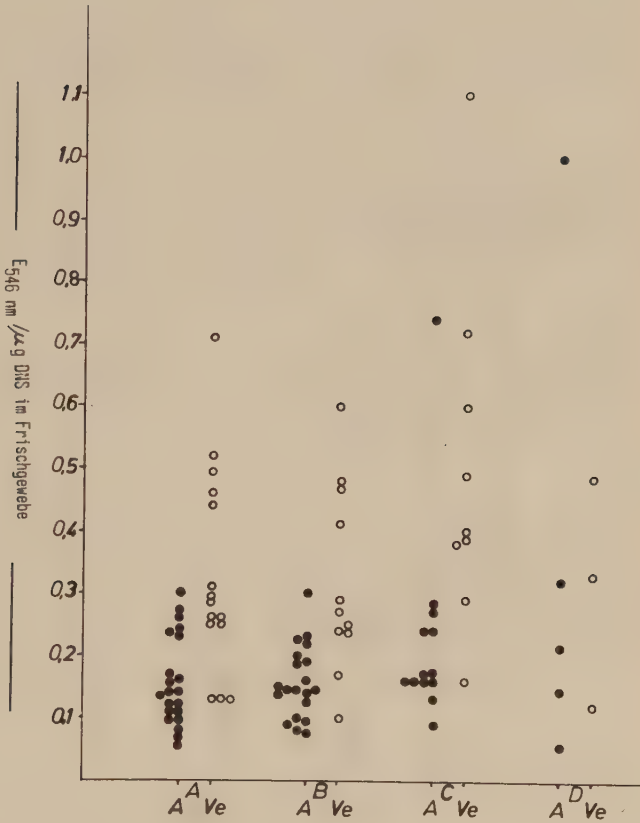


β -Glucuronidase: Vergleich der Enzymaktivitäten von Arterie und Vene (Ve) in Abhängigkeit von normalen(A) und sklerotisch veränderten Arterienwandabschnitten (B,C,D,) im Protein-Bezugssystem

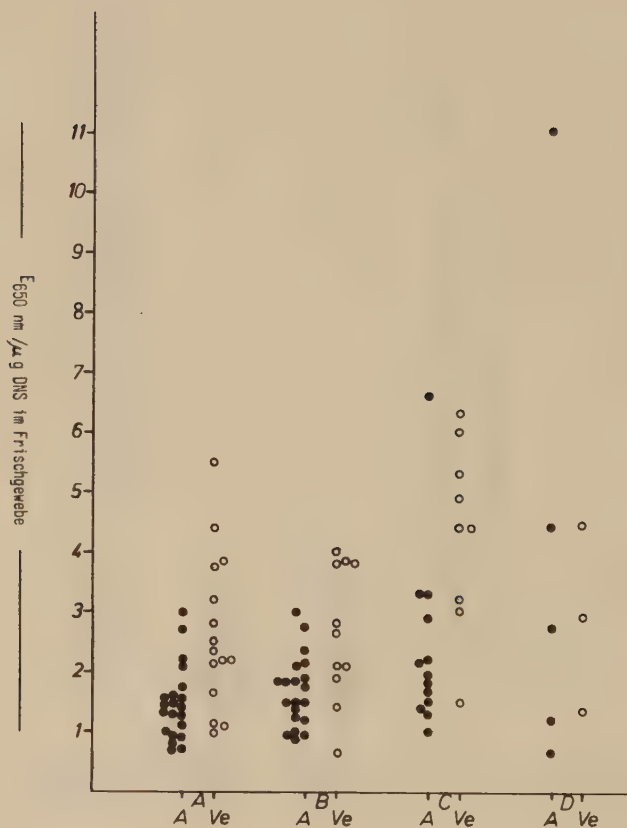
Abbildung 24



B-Acetylglucosaminidase: Vergleich der Enzymaktivitäten von Arterie und Vene (Ve) in Abhängigkeit von normalen (A) und sklerotisch veränderten Arterienwandabschnitten (B,C,D,) im Protein-Bezugssystem



β -Glucuronidase: Vergleich der Enzymaktivitäten von Arterie und Vene (Ve) in Abhängigkeit von normalen (A) und sklerotisch veränderten Arterienwandabschnitten (B,C,D) im DNS-Bezugssystem



* B-Acetylglucosaminidase: Vergleich der Enzymaktivitäten von Arterie und Vene (Ve) in Abhängigkeit von normalen (A) und sklerotisch veränderten Arterienwandabschnitten (B,C,D) im DNS-Bezugssystem

Herrn Prof. Dr. H.G. Lasch danke ich, daß ich die Möglichkeit hatte, in seiner Abteilung der Medizinischen Kliniken zu arbeiten.

Herrn Priv.-Doz. Dr. D. Platt gebührt mein besonderer Dank für die Überlassung des Themas, die Anregungen und die großzügige Hilfe bei der Anfertigung der Arbeit.

Für die freundliche Unterstützung und die Überlassung des Untersuchungsgutes möchte ich Herrn Prof. Dr. J. Kracht und seinen Assistenten danken.

Ebenso danke ich Herrn Prof. Dr. L. Róka für die in seinem Labor sorgfältig durchgeführten Bestimmungen der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, Glutamat-Pyruvat-Transaminase, alkalischen Phosphatase und Lactat-Dehydrogenase.

Lebenslauf:

Am 10. April 1946 wurde ich als erstes Kind des Augenarztes Dr. med. Eberhard Pernice und seiner Ehefrau Dr. med. Margarethe, geb. Ziegler, in Korbach, Kreis Waldeck, geboren.

Meine Einschulung erfolgte Ostern 1952 in Göttingen, weiterhin besuchte ich noch die Volksschulen in Mühlhausen und Bad Hersfeld, ehe ich Ostern 1956 in den altsprachlichen Zweig der Alten Klosterschule zu Bad Hersfeld eintrat. Ostern 1965 bestand ich an diesem Gymnasium die Reifeprüfung und begann mit dem Medizinstudium an der Justus Liebig-Universität in Gießen. Im April 1966 unterzog ich mich mit Erfolg der naturwissenschaftlichen Vorprüfung und bestand im Oktober 1967 die ärztliche Vorprüfung.

Im Wintersemester 1970/1971 habe ich in Gießen das Staatsexamen abgelegt.

